

氏 名	寺 澤 和 哉
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2681 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	MAPK ファミリー分子 ERK5 経路による転写因子 c-Fos と Fra-1 の 制御および ERK5 の細胞内局在の解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 西 田 栄 介	教 授 永 田 和 宏	教 授 藤 吉 好 則
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

MAP キナーゼ (MAPK) は細胞増殖や分化など多くの生命現象において重要な役割を果たすことが明らかにされている。MAPK はその特異的な MAPKK によってリン酸化されることで活性化する。現在 MAPK ファミリーは、ERK1/2, JNK, p38 と ERK5 の 4 種のサブファミリーが知られており、ERK5 は最も新しく発見されたものである。ERK5 は増殖因子や種々のストレスで活性化することが知られており、その特異的な MAPKK は MEK5 である。MEK5-ERK5 経路の下流は十分には解明されていなかった。ERK1/2 経路の場合と同じく、ERK5 経路の活性化により初期応答遺伝子 c-Fos の発現誘導が起こることと、ERK1/2 経路の活性化では c-Fos の発現誘導以外に、c-Fos タンパク質のリン酸化と安定化を引き起こすことが報告されていた。本論文では、ERK5 経路もまた c-Fos タンパク質の制御に関わる可能性に関して検討した。

まず、構成的活性型である MEK5D を用いて ERK5 を活性化すると、c-Fos タンパク質のリン酸化と安定化が起こることを見出した。また、変異体 c-Fos を用いた解析から、ERK5 経路による c-Fos タンパク質の安定化には、ERK1/2 の場合と同じく C 末の 362 と 374 番目のセリンが重要なことを示した。さらに ERK5 経路の活性化によって 362 番目と 374 番目以外の残基にもリン酸化が起こることを明らかにした。c-Fos タンパク質のリン酸化は、ERK5 だけでなくその下流で活性化する未同定のキナーゼによっても担われている可能性が高いことが分かった。また Fos 関連遺伝子産物である Fra-1 タンパク質も、ERK5 活性化によってリン酸化と安定化が起こることを示した。さらに、ERK5 経路の活性化によって c-Fos と Fra-1 の転写活性化能が上昇することを見出した。c-Fos に関しては、ERK1/2 経路では活性化が起きず、ERK5 経路でのみ活性化が観察された。また、c-Fos と Fra-1 の活性化には ERK5 のキナーゼ活性だけでなく、ERK5 の C 端領域も必要なことを明らかにした。これらのことから、MEK5-ERK5 経路が AP-1 転写因子である c-Fos と Fra-1 の制御において重要な役割を果たすことが示唆された。

活性化していない ERK5 は細胞質に存在し、活性化すると核へ移行することと、ERK5 が核内移行シグナル (NLS) を持つことが報告されていたが、ERK5 の細胞内局在に関する研究は十分には行われていなかった。そこで ERK5 の細胞内局在に関しても検討を行った。レポーターアッセイの実験から ERK5 経路による c-Fos の活性化に、ERK5 の核への移行が重要なことを明らかにした。変異体 ERK5 を用いた解析から、ERK5 の核への移行に MEK5 による ERK5 のリン酸化が必要なことを示した。さらに、不活性な ERK5 において NLS が機能せず、活性な ERK5 で NLS が機能する分子的機構に関するモデルを実験結果より提唱した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ERK5 は最も新しく発見された MAPK ファミリー分子である。ごく最近にノックアウトマウスの解析がなされ、胚生致死なことから発生過程に必須の遺伝子であることが示された。このことより ERK5 は重要な機能を持った遺伝子であると考えられるが、他の MAPK ファミリーに比べてまだ十分には解析が進んでいない。ERK5 はその特異的な MAPKK であ

る MEK5 によって活性化される。古典的 MAPK 経路である MEK1/2-ERK1/2 経路の活性化が、初期応答遺伝子である c-Fos 遺伝子を発現誘導し、さらに発現した c-Fos タンパク質のリン酸化と安定化を引き起こすことが知られており、ERK5 経路の活性化により初期応答遺伝子である c-Fos の発現誘導が起こることが報告されていた。そこで申請者は、ERK5 経路もまた c-Fos タンパク質をリン酸化し安定化する可能性を検討した。

申請者は、ERK5 経路の活性化によって c-Fos タンパク質のリン酸化と安定化が起こることを明らかにした。また、c-Fos 変異体を用いた解析により、ERK5 経路による c-Fos タンパク質のリン酸化部位を同定した。さらに、Fos 関連遺伝子産物である Fra-1 タンパク質もまた、ERK5 経路の活性化によってリン酸化と安定化を受けることを見出した。次に申請者は、レポーターアッセイにより ERK5 経路の活性化によって c-Fos と Fra-1 タンパク質の転写活性機能が上昇することを見出した。ERK5 経路の下流因子は転写因子 MEF2 や Sapla, キナーゼである RSK2 などが知られているだけであった。申請者の研究は新たに下流因子として AP-1 ファミリーである c-Fos と Fra-1 を見出したものであり、今後の MEK5-ERK5 経路の研究の進展において貢献するものと考えられる。

不活性な ERK5 は細胞質に存在し、活性化した ERK5 は核へ移行することが知られていた。申請者は、レポーターアッセイにより ERK5 の核への移行が c-Fos タンパク質の活性化に重要であることを示した。さらに、変異体 ERK5 を用いた実験より、ERK5 の細胞内局在の制御機構の仮説を提唱した。この仮説の検証は今後の課題であるが、ERK5 の細胞内局在の研究はほとんどされておらず、本研究は ERK5 経路のシグナル伝達の分子的機構の解明につながるものと考えられる。

以上申請論文は、生化学的および分子細胞生物学的な解析から、ERK5 経路が AP-1 ファミリーである c-Fos タンパク質と Fra-1 タンパク質を制御し得ることを初めて明らかにしたものであり、また ERK5 の細胞内局在の制御機構に関しても新しい知見をもたらした。よって、博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。なお、論文内容とそれに関連した諮問の結果合格と認めた。