

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	遠藤 達矢
論文題目	初期胚発生におけるSGK1による細胞非自律的な細胞死抑制機構		
(論文内容の要旨)			
SGK1は、進化的に保存されたセリン・スレオニンキナーゼであり、プロテインキナーゼB /Akt (PKB/Akt) やプロテインキナーゼC (PKC) などとともにAGCキナーゼファミリーの一員である。SGK1は、上皮細胞でのイオン輸送の制御や細胞の生存の促進など多様な生命現象への関与が知られているが、その発生過程における機能は未知である。脊椎動物の全ての組織や器官は、外胚葉、中胚葉および内胚葉という三つの胚葉から生じ、多細胞生物の発生過程において細胞・胚葉間の相互作用は形態形成に不可欠である。しかしながら、そのような相互作用が細胞の生存に機能しているかについては不明な点が多い。申請者はアフリカツメガエル初期胚においてserum- and glucocorticoid- inducible kinase 1 (SGK1) が細胞非自律的に外胚葉細胞の生存を促進することを明らかにした。RT-PCRにより、SGK1は初期胚において2細胞期から尾芽胚期まで継続的に発現することがわかった。またホルマウント<i>in situ</i>ハイブリダイゼーションの結果、主に予定内胚葉領域と背側中胚葉領域にSGK1の発現が観察された。アンチセンス・モルフォリノ・オリゴヌクレオチドを用いて背側のSGK1をノックダウンすると、体軸、頭部および眼の形成に異常が生じた。腹側のノックダウンでは尾部の形態異常が観察された。SGK1は主に内胚葉と背側中胚葉に発現するが、SGK1ノックダウン胚は外胚葉に過剰なアポトーシスが誘導された。SGK1のモルフォリノをインジェクションした外胚葉片ではアポトーシスが誘導されなかったこと、および内胚葉と中胚葉に存在するSGK1をノックダウンすると外胚葉にアポトーシスが誘導されたことから、SGK1は細胞非自律的に外胚葉の生存を促進することが示唆される。マイクロアレイで遺伝子の発現変化を解析した結果、SGK1ノックダウン胚ではFADDとcaspase-10の発現量が上昇した。これらは、death-inducing signaling complex (DISC) という蛋白質複合体を形成する分子である。ドミナントネガティブ型のFADDをSGK1ノックダウン胚にインジェクションすると、過剰なアポトーシスは抑制された。分泌因子であるbone morphogenic protein 7 (BMP7) はSGK1のノックダウンによって発現量が減少するが、BMP7をSGK1ノックダウン胚にインジェクションするとFADDとcaspase-10の発現が抑えられた。さらに、細胞の生存を促進する転写因子として知られるnuclear factor κB (NF-κB) は、SGK1の下流で機能し、BMP7の転写を直接に制御することがわかった。さらにSGK1の上流ではphosphoinositide 3-kinase (PI3K) が機能し、BMP7を介してDISC構成因子の発現を抑制することがわかった。本研究が提唱するのは、初期胚発生においてPI3K-SGK1-NF-κB経路が内胚葉と中胚葉でBMP7の産生を促し、BMP7が外胚葉でDISCの機能を抑制する生存促進因子として働くというモデルである。			

(論文審査の結果の要旨)

プログラム細胞死の一種であるアポトーシスは動物の発生において重要な働きを持つことが知られている。しかしながら、発生過程でアポトーシスがどのように細胞間で制御されているかについては明らかになっていない部分が多い。本研究で申請者は、アフリカツメガエル初期胚において、進化的に保存されたセリン・スレオニンキナーゼであるserum- and glucocorticoid- inducible kinase 1(SGK1) が細胞非自律的に外胚葉細胞の生存を促進することを明らかにした。まず申請者は、SGK1が初期胚において継続的に発現し、主に予定内胚葉領域と背側中胚葉領域に存在することを見出した。アンチセンス・モルフォリノ・オリゴヌクレオチドを用いたSGK1のノックダウン実験から、SGK1は体軸、頭部、眼および尾部の形成に必須の分子であることを見出した。SGK1は主に内胚葉と背側中胚葉に発現するが、SGK1ノックダウン胚は外胚葉に過剰なアポトーシスが誘導された。SGK1のモルフォリノをインジェクションした外胚葉片ではアポトーシスが誘導されなかったこと、および内胚葉と中胚葉に存在するSGK1をノックダウンすると外胚葉にアポトーシスが誘導されたことから、申請者はSGK1が細胞非自律的に外胚葉の細胞死を抑制するのではないかと考えた。マイクロアレイで遺伝子の発現変化を解析した結果、SGK1ノックダウン胚ではdeath-inducing signaling complex (DISC)という蛋白質複合体を形成する分子であるFADDとcaspase-10の発現量が上昇していることを見出した。ドミナントネガティブ型のFADDをSGK1ノックダウン胚にインジェクションすると、過剰なアポトーシスは抑制された。分泌因子であるbone morphogenic protein 7 (BMP7)はSGK1のノックダウンによって発現量が減少するが、BMP7をSGK1ノックダウン胚にインジェクションするとFADDとcaspase-10の発現が抑えられた。細胞の生存を促進する転写因子として知られるnuclear factor κ B (NF- κ B)は、SGK1の下流で機能し、BMP7の転写を直接に制御することを見出した。さらに、SGK1の上流ではphosphoinositide 3-kinase (PI3K) が機能し、BMP7を介してDISC構成因子の発現を抑制することを見出した。以上の結果は、初期胚において胚葉を越えて細胞死を抑制する新たなシグナル伝達経路の存在を示唆するものである。

以上のように、本論文で述べられた成果は重要であり、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものとして認めた。さらに平成23年1月24日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日