

氏名(本籍) : 工藤 忠明

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第328号

学位授与年月日 : 平成17年3月25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 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : *Spatial Regulation of the JNK Signaling Pathway by Bone Morphogenetic Protein Receptor II*

(Bone Morphogenetic Protein Receptor II による JNK シグナル伝達経路の空間的制御)

論文審査委員 : (主査) 教授 田村 真理

教授 高橋 信博 教授 高田 春比古

論文内容要旨

真核生物に高度に保存されている MAP キナーゼカスケードは、細胞内シグナル伝達において極めて重要な機能を果たすことが明らかにされている。哺乳類 MAP キナーゼカスケードを構成するシグナル伝達経路としては、主に ERK シグナル伝達経路、JNK シグナル伝達経路、p38 シグナル伝達経路および ERK5 シグナル伝達経路の4つが知られている。この中で JNK シグナル伝達経路は、細胞増殖、分化、アポトーシス、細胞運動や細胞の腫瘍化等、多様な細胞機能の調節に関与することが知られており、臨床面では、癌、心臓疾患、炎症性疾患への関与が示されている。

近年、JNK は、c-Jun や ATF-2 等の核内転写因子のみならず Paxillin, MAP1B, Bcl-2 をはじめ、細胞核外にも複数の基質を有し、重要な役割を果たしていることが次々と明らかにされ、JNK の細胞核外での機能が注目されているが、初期発生や細胞分化における JNK の細胞核外での機能や、細胞内局在の空間的制御機構についてはいまだ不明な点が多く、私は本研究でこの点についての解析を行った。

まず、JNK 結合性分子に高度に保存されているアミノ酸配列モチーフ (JNK Binding Domain, JBD) に着目し、JNK の細胞核外の新たな標的をアミノ酸配列データベースで網羅的に探索したところ、初期発生や器官形成に重要な役割を担う BMP Receptor II (BMPRII) がその C 末端領域に JBD を保持することが明らかとなった。そこで哺乳動物細胞を用いて細胞内相互作用を検討したところ、BMPRII 特有の C 末端領域 (CT 領域) は、JNK のみならず、その上流キナーゼである MKK4/7 及び ASK1 とも会合した。BMP2 処理 (100-200ng/ml) により、これらの複合体形成は促進された。その際、ASK1 の活性レベルが2倍以上上昇した。更に、活性化された JNK は、CT 領域上の3つのスレオニン残基 (T575, T621, T977) を直接リン酸化した。ASK1/JNK 経路によってリン酸化された BMPRII は、ユビキチンプロテアソーム系により分解を受け、これにより自身の安定性が低下し、BMP2 シグナルに影響を及ぼした。

以上の結果より、BMPRII が新規の細胞膜型スキヤフォードタンパクであることが明らかになり、JNK によるリン酸化を介した新規の BMPRII 安定性制御メカニズムの存在が示唆された。一方、既に BMPRII 以外にも、本研究で得られた検索結果の中に、JNK と細胞内で結合する新規タンパクを認めていることから、本研究で実施した新規相互作用分子の探索手法が、JNK の未知の機能や潜在的な JNK 結合性分子を明らかにする上で有効な手段であることが示された。

審 査 結 果 要 旨

ストレス応答シグナル伝達路 (SAPK システム) は、ストレス応答、炎症反応、細胞増殖、細胞分化や細胞死など、多様な生物学的現象において重要な役割を果たす細胞内情報伝達路である。SAPK システムの基本骨格はタンパク質リン酸化酵素である MKKK, MKK 及び MAPK よりなる 3 段階の連続したリン酸化反応であり、MAPK としては JNK 及び p38 の二種類が知られている。細胞の環境ストレス刺激などにより、MKKK-MKK を介して活性化された JNK や p38 は細胞核内に移行し、リン酸化により、転写因子の機能を調節することが既に知られている。しかしながら、最近、JNK には、c-Jun や ATF-2 等の核内転写因子のみならず、Paxillin, MAP1B や Bcl-2 をはじめとして、複数の核外基質が存在することが明らかにされ、JNK の細胞核外での機能が注目されているが、初期発生や細胞分化における JNK の細胞核外での機能や、細胞内局在の空間的制御機構についてはいまだ不明な点が多く、本論文で著者はこれらの点についての検討を行った。

まず、JNK 結合性分子に高度に保存されているアミノ酸配列モチーフ (JNK Binding Domain, JBD) に着目し、JNK の細胞核外の新たな標的をアミノ酸配列データベースで網羅的に探索したところ、初期発生や器官形成に重要な役割を担う BMP Receptor II (BMPRII) が、その C 末端領域に JBD を保持することが明らかとなった。そこで哺乳動物細胞を用いて細胞内相互作用を検討したところ、BMPRII 特有の C 末端領域 (CT 領域) は、JNK のみならず、その上流キナーゼである、MKK4/7 及び ASK1 とも会合した。BMP2 処理 (100-200ng/ml) により、これらの複合体形成が促進された。その際、ASK1 の活性レベルが 2 倍以上上昇した。更に、活性化された JNK は、CT 領域上の 3 つのスレオニン残基 (T575, T621, T977) を直接リン酸化した。ASK1/JNK 経路によってリン酸化された BMPRII は、ユビキチンプロテアソーム系により分解を受け、これにより自身の安定性が低下し、BMP2 シグナルに影響をおよぼした。これらの知見に基づいて、著者は、BMPRII が SAPK システムの機能制御に関わる新規の細胞膜型足場タンパク質であり、BMPRII 上で活性化された JNK が、リン酸化を介して、BMPRII の安定性を制御すると結論している。

以上のように、本論文では、BMPRII が SAPK システムの新規の細胞膜型足場タンパク質であること及び JNK によるリン酸化を介した新規の BMPRII 安定性制御のメカニズムが存在することが示されており、SAPK システムの生物学的意義と制御機構の解明に資するところが大きい。従って、本審査委員会は、本論文が博士 (歯学) の学位に値するものと判定した。