

氏名(本籍) : 粟野健二郎

学位の種類 : 博士(歯学) 学位記番号 : 歯博第358号

学位授与年月日 : 平成18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 : 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 : JNKの新規核外基質の同定—PP2Czetaはストレス依存的にJNKによってリン酸化される

論文審査委員 : (主査) 教授 越後成志

教授 田村眞理 教授 高田春比古

論文内容要旨

要旨

ストレス応答シグナル伝達路(SAPKシステム)は生体防御機構, 初期発生や細胞分化において重要な役割を果たす多機能シグナル伝達路である。SAPKシステムはMKKK, MKK及びMAPK(JNK及びp38)による三段階の連続したリン酸化反応を基本骨格としており, 活性化されたMAPKが核内タンパク質のリン酸化を介して転写制御を行い, 多様な細胞応答を引き起こすことが知られている。しかしながら最近, MAPKが核外タンパク質をもリン酸化することが相次いで報告されており, 核外でのMAPKの機能の解明が重要な研究課題となっている。

プロテインホスファターゼ2C(PP2C)は, タンパク質のリン酸化されたセリン/スレオニン残基を特異的に脱リン酸化する酵素であり, 哺乳動物細胞において少なくとも12種類のPP2C遺伝子が発現している。PP2CファミリーのメンバーであるPP2Czeta(PP2C ζ)は精巢に強く発現がみられ, JNKやp38によってリン酸化されるセリン・プロリン(SP)/スレオニン・プロリン(TP)配列が複数集中した, 特徴的な領域を有している。そこで, PP2C ζ が*in vitro*においてJNKやp38の基質となる可能性について検討したところ, JNKによってのみリン酸化されることが明らかとなった。培養細胞への強制発現系においても, ストレス依存的に活性化されたJNKによってリン酸化されることを見出した。また, 培養細胞へ強制発現されたPP2C ζ は中心体への局在を示した。これらの結果より, JNKの新規核外基質であるPP2C ζ は, 中心体において何らかの機能を発揮し, その機能がJNKによって制御される可能性が示唆された。

審査結果要旨

生体防御機構、初期発生や細胞分化において重要な役割を果たすストレス応答シグナル伝達路である SAPK システム (stress-activated protein kinase system) は MAPKKK (mitogen-activated protein kinase kinase), MAPKK および MAPK [(c-Jun N-terminal kinase) JNK と p38]による三段階の連続したカスケードによるリン酸化反応を基本骨格とした反応を起こすことが知られている。

近年、外界からのストレスや炎症性サイトカイン等によって活性化された MAPK (以下: SAPK も含む) が、核内タンパク質のリン酸化を介して多様な細胞反応を引き起こすことが知られていたが、核外タンパク質をもリン酸化することが報告され、核外での MAPK の機能の解明が重要な課題となっている。

本研究では、タンパク質のリン酸化されたセリン/スレオニン残基を特異的に脱リン酸化する酵素で、哺乳動物細胞において少なくとも12種類発現しているプロテインホスファターゼ2C(PP2C)メンバー中の PP2Czeta(PP2C ζ)は精巢に強く発現がみられ、JNK や p38 によってリン酸化されうるセリン・プロリン (SP)/スレオニン・プロリン (TP) 配列が複数集中した特徴的な領域を有していることから、PP2C ζ が *in vitro* および *in vivo* において JNK や p38 の基質となる可能性について検討している。

- 1) *in vitro* の実験: ①リコンビナント PP2C ζ に活性化した JNK あるいは p38 を作用させたところ、JNK ではリン酸化されたが、p38 ではリン酸化されなかった。② PP2C ζ を [γ - 32 P]ATP を用いて JNK でリン酸化し、 32 P でラベルされた部位を同定したところ Ser92 と Thr202/205 であることが示唆された。
- 2) *in vivo* の実験: ①293細胞において PP2C ζ の Thr202/205 はストレス依存的にリン酸化された。② HeLa 細胞に GFP(green fluorescent protein)-PP2C ζ を発現させ、その細胞内分布について共焦点顕微鏡にて検討したところ、PP2C ζ は細胞周期非依存的に中心体に局在することが示唆された。

以上のことから、PP2C ζ は JNK の新規核外基質であり、中心体において何らかの機能を発揮していると考えられるが、その機能は JNK によって制御される可能性が示唆された。

以上、本研究は PP2C ζ が SAPK である JNK の新規核外基質ということを示したものであり、本研究の結果は、SAPK シグナル伝達路が関与する細胞内分子機構の解明に期待され、歯科学を含む生命科学の発展に寄与するものと考えられる。よって本論文は博士(歯学)の学位授与に値するものと認める。