



Title	Activation of Phosphatidylinositol 3-Kinase through Glycoprotein 130 Induces Protein Kinase B and p70 S6 Kinase Phosphorylation in Cardiac Myocytes
Author(s)	王, 英正
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41103">https://hdl.handle.net/11094/41103</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照</a> ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	おう 王 ひで 英 まさ 正
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 1 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 9 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Activation of Phosphatidylinositol 3-Kinase through Glycoprotein 130 Induces Protein Kinase B and p70 S6 Kinase Phosphorylation in Cardiac Myocytes (心筋細胞内においてホスファチジルイノシトール 3 キナーゼは gp 130 を介してプロテインキナーゼ B と p70 S6 キナーゼを活性化する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次 (副査) 教 授 堀 正 二 教 授 荻 原 俊 男

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

Cardiotrophin-1/leukemia inhibitory factor (CT-1/LIF), カテコラミン, アンジオテンシン II 等の様々な因子が, 異なる受容体を介して心肥大に関与していることが知られている。しかし, 異なるリガンドによっても細胞内において同一の反応が観察されることは, これらの情報伝達系に共通した分子が介在していることが推測される。Phosphatidylinositol (PI) 3-kinase は様々なサイトカインによりチロシンリン酸化される蛋白質で, 広汎な作用を細胞内に伝達する。心筋細胞において, gp 130 を介して肥大と保護作用が観察されるが, これらの異なる情報伝達に共通して存在する分子機構は明らかでない。今回, gp 130 を介する PI3-kinase の活性化と, その下流に存在する標的蛋白の心筋細胞における役割とその活性化機構について解析することを目的とする。

### 【方法ならびに成績】

1) 新生児ラット培養心筋細胞を用いて, LIF ( $10^3$  U/ml) 刺激後, PI3-kinase に対する特異抗体, 特異基質を用いた immune complex assay, Western-blot 法によりその kinase 活性を解析した。LIF 刺激により, PI3-kinase の活性は10分を最大として認められ, この活性は PI3-kinase の特異的阻害薬である wortmannin (WM) を前処置することにより完全に抑制された。

2) 心筋細胞肥大に伴い, p70 S6 kinase が活性化されるが, これが PI3-kinase の下流に存在するか否かを検討した。Mobility shift assay, immune complex assay により, LIF 刺激後, p70 S6 kinase の活性は15分を最大として認められ, p70 S6 kinase の特異的阻害薬である rapamycin (RAP) と WM により, 濃度依存性に抑制された。

3) [ $^3$ H]leucine uptake を指標として蛋白合成能を, Northern-blot 法により c-fos mRNA の発現を解析した。LIF 刺激により亢進した蛋白合成能や c-fos mRNA の発現は, WM と RAP により抑制された。

4) 特定のリン酸化配列 (PLS/TP) を含む合成蛋白を用いて, WM, RAP, phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) をそれぞれ前処置後, mitogen-activated protein (MAP) kinase の活性化を解析した。LIF 刺激による MAP

kinase の活性化は RAP あるいは PMA による PKC down-regulation により抑制されず、WM でのみ抑制されたことから、PI3-kinase 依存性かつ  $Ca^{2+}$  非依存性であると推察された。

5) PI3-kinase の活性化機構について検討した。Western-blot 法により、PI3-kinase は LIF 非依存性に JAK1 と結合するが、immune complex assay では、LIF 刺激後の抗 JAK1 抗体で免疫沈降した蛋白分画中にも、PI3-kinase の比活性の上昇が認められた。さらに、JAK の下流に存在する signal-transducer and activator of transcription 3 の LIF によるリン酸化機構について検討したが、WM, RAP, MAP kinase kinase inhibitor のいずれによっても、抑制を受けなかった。

6) Crosstide を基質として用いた immune complex assay により、LIF はアポトーシス抑制因子である protein kinase B を15分を最大として活性化し、WM によりこの活性は有意に抑制された。

#### 【総括】

心筋細胞において LIF は PI3-kinase を介して、MAP kinase, p70 S6 kinase, protein kinase B を活性化し、肥大と心筋保護に関与していると考えられた。LIF 刺激により PI3-kinase が活性化する機構として、チロシンリン酸化された JAK1 との結合が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

Leukemia inhibitory factor, カテコラミン, アンジオテンシン II 等様々な因子が異なる receptor を介して心筋細胞肥大に関与していることは、これらの情報伝達系に共通した分子が介在していることが推測される。PI3-kinase は様々なサイトカインによりチロシンリン酸化される蛋白質で、広汎な作用を細胞内に伝達する。この研究では、gp 130 を介する心筋細胞肥大と保護作用における PI3-kinase の分子制御機構について明らかにした。

申請者は、心筋細胞において gp 130 を介して、PI3-kinase はチロシンリン酸化された JAK1 と結合することで活性化されることを証明した。また、apoptosis 抑制因子である protein kinase B 及びその下流に存在する蛋白合成に重要な p70 S6 kinase と MAP kinase を同時に活性化することから、心筋細胞肥大は心筋細胞障害に対する代償的な変化と考えられる。

PI3-kinase を介して生ずる心筋細胞肥大やその下流に存在する心筋細胞死の抑制因子である protein kinase B の解明は、心筋細胞肥大という病態に新たな解釈をもたらし、極めて独創性が高いと考えられる。以上のことよりこの研究は学位に値すると考えられる。