

Title	培養小脳顆粒細胞のアポトーシスにおけるMAPキナーゼスーパーファミリーの役割
Author(s)	山岸, 覚
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43585
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	山 岸 覚 <small>やま ぎし さとる</small>
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 6 7 6 5 号
学位授与年月日	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	培養小脳顆粒細胞のアポトーシスにおける MAP キナーゼスーパーファミリーの役割
論文審査委員	(主査) 教授 小倉 明彦 (副査) 教授 岡田 雅人 教授 田嶋 正二

論 文 内 容 の 要 旨

小脳顆粒細胞は神経細胞死の研究に非常によく用いられる系である。小脳顆粒細胞は、高カリウムを含む培地中で成熟する。成熟後、低カリウム培地に交換することにより、急速にアポトーシスを引き起こすことができる。私はこの系を用いて、①p38が c-Jun の活性化およびアポトーシス誘導に深く関与していること、②ASK1が p38および c-Jun の活性制御を行う上流因子であること、③ASK1-p38-c-Jun 経路が PI3-K によって活性化抑制を受けていることを明らかにした。

①p38による c-Jun の活性化

この低カリウムによって誘導されるアポトーシスにおいては、転写因子である c-Jun のリン酸化による活性化が必要であることが Watson らによって報告されている。しかしながら、c-Jun をリン酸化しているキナーゼが何であるのかについては不明であった。そこで私は、c-Jun のリン酸化に関与するキナーゼの検索を行った。その結果、p38が c-Jun のリン酸化に関与していることが見出された。また、p38の特異的阻害剤、SB203580は濃度依存的に LK 培地置換によって誘導される細胞死を抑制した。以上の結果から、低カリウムによって誘導される培養小脳顆粒細胞のアポトーシスにおいて p38が c-Jun をリン酸化すること、そしてアポトーシス誘導に積極的に関与していることが示された。

②ASK1による p38-c-Jun 経路の調節

次に私は p38の活性制御に関わる分子の解析を行った。一條らは、近年、ASK1と呼ばれる蛋白質をクローニングした。彼らは ASK1が JNK や p38を活性化させることを明らかにした。そこで私は、ASK1が低カリウムで誘導される p38の活性上昇に関与しているかを検討した。その結果、LK 培地置換後 3 時間において、ASK1が活性化されることを見出した。また、アデノウイルスを用い、優性抑制変異型 ASK1を発現させると、細胞死が抑制され、p38 および c-Jun のリン酸化も抑制されることを観察した。また、恒常的活性化型 ASK1を発現させると、p38および c-Jun のリン酸化の増強が観察された。以上の結果は、培養小脳顆粒細胞において ASK1が p38-c-Jun 経路を活性化し、アポトーシスの制御に関与していることを示している。

③PI3-K による ASK1経路の活性化抑制

脳由来神経栄養因子 (BDNF) およびインスリン様成長因子-1 (IGF-1) は小脳顆粒細胞のアポトーシスを抑制することが知られている。しかしながら、その機構については不明な点が多い。本研究において私は、両栄養因子が

ASK1-p38-c-Jun の経路を活性上昇を抑制していることを見出した。さらに私は、PI3-K の阻害剤である LY294002 を投与することにより、ASK1の活性および、p38と c-Jun のリン酸化が顕著に亢進することがわかった。この結果は、PI3-K が ASK1-p38-c-Jun 経路を負に制御していることを示している。そして、BDNF と IGF-1は PI3-K 経路の活性化を介して ASK1にはじまる p38-c-Jun 経路を抑制することにより生存維持効果を発揮している可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

山岸覚君は、小脳顆粒細胞の培養系を用いて、活動停止によって誘発される神経細胞死の機構を解析した。その結果、アポトーシスカスケードの上流に ASK1があること、下流に p38と ERK があること、さらに下流に c-Jun があること、従来考えられてきた JNK の活性化はないこと、BDNF などの栄養因子は PI3K の活性化と ASK1の抑制を通じて生存を促すこと、などを明らかにした。これらの知見は、神経細胞の活動依存的生存の機構解明に寄与するところが大きく、理学博士の学位論文として十分価値のあるものと認める。