



Title	Function and Role of a novel p38 Mitogen-activated Protein Kinase $\alpha$ Splice Variant, p38 $\alpha$ 2
Author(s)	日下, 永子
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44031">https://hdl.handle.net/11094/44031</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">〈a href="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">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	くさ かい こ 下 永 子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 17544 号
学位授与年月日	平成 15 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	Function and Role of a novel p38 Mitogen-activated Protein Kinase $\alpha$ Splice Variant, p38 $\alpha$ 2. (p38MAP キナーゼ $\alpha$ の新規スプライスバリエント p38 $\alpha$ 2 における機能とその役割)
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 雅人  (副査) 教授 永井 克也 教授 小倉 明彦

### 論文内容の要旨

**序論** 主な mitogen-activated protein kinases (MAPKs) ファミリーの一つ p38 は、細胞外のストレス刺激を細胞内へ伝達するキナーゼである。p38  $\alpha$  は細胞の死を制御する主要なキナーゼであるが、その役割については不明な点が多い。私は、1)p38  $\alpha$  の新規スプライスバリエントを同定し (p38  $\alpha$  2 と命名)、これがミトコンドリアに局在化しアポトーシスを誘導すること、2)p38  $\alpha$  2 のアポトーシス誘導活性は、その C 末領域とキナーゼ活性により制御されていること、3)ER ストレスにより p38  $\alpha$  2 mRNA が誘導されることを明らかにした。局在化した p38  $\alpha$  2 はミトコンドリアの機能不全を引き起こし、細胞死を誘導するが、p38  $\alpha$  2 誘導アポトーシスは、ミトコンドリア依存性だが、チトクローム c やカスパーゼに非依存性を示すことが示唆された。

#### 1)p38 $\alpha$ の新規スプライス産物 (p38 $\alpha$ 2) のクローニングとその細胞死の誘導

私は、胎生 20 日齢のラット全脳より p38  $\alpha$  2 をクローニングした。P38  $\alpha$  2 はスプライシングにより、CD ドメインを欠損していた。P38  $\alpha$  2 mRNA はユビキタスに発現し、出生直後で最もよく発現していた。このような性質を持つ p38  $\alpha$  2 の細胞内での機能を調べるため、COS1 細胞内で Flag-p38  $\alpha$  2 を強制発現させた。p38  $\alpha$  2 は p38 活性化刺激により、リン酸化されなかった。免疫染色により、p38  $\alpha$  2 はミトコンドリアに局在化し、p38  $\alpha$  2 を発現した細胞は Hoescht 33258 染色により、核凝縮 (アポトーシス) が誘導されていることがわかった。

#### 2)C 末領域による p38 $\alpha$ 2 の機能制御

P38  $\alpha$  2 の機能はどのように制御されているかを調べるために、p38  $\alpha$  2 の C 末領域のデリーション変異体と、p38  $\alpha$  2 の ATP-結合部位に変異導入をしたキナーゼネガティブ変異体、K53M を作成した。その結果、C 末領域を削ったことやキナーゼ活性を欠損させたことで、ミトコンドリアへの局在やアポトーシスは観察されなかった。以上の結果は、p38  $\alpha$  2 のキナーゼ活性と C 末領域は p38  $\alpha$  2 の機能発現制御に関与していることを示している。

#### 3)p38 $\alpha$ 2 mRNA の ER ストレスによる発現と p38 $\alpha$ 2 によるミトコンドリアの機能不全によりアポトーシスを誘導する。

アポトーシスを誘導するストレスの ER ストレスにより、p38  $\alpha$  2 mRNA の発現上昇が観察された。また、一般的にアポトーシス誘導経路に、ミトコンドリアを介した経路が存在する。p38  $\alpha$  2 がミトコンドリアに局在化し、アポ

トーシスを誘導する知見から、p38 $\alpha$ 2 によるアポトーシスの経路はミトコンドリアを介したものを調べるため、チトクローム c の放出とカスパーズの関与および Bcl-2 のリン酸化をそれぞれウェスタンブロッティングおよびカスパーズ阻害剤により検討した。その結果、p38 $\alpha$ 2 によるアポトーシスの経路はミトコンドリア経路を介さないものと考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

日下永子君は、動物細胞におけるストレス応答の分子機能を明らかにするために、p38MAP キナーゼの機能解析を行った。その結果、p38MAP キナーゼの新たな splicing variant として p38 $\alpha$ 2 を同定し、p38 $\alpha$ 2 が、1) 小胞体ストレスで誘導されること、2) ミトコンドリアに局在化すること、3) キナーゼ活性依存的にアポトーシスを誘導すること、4) 既存の経路とは異なる経路でアポトーシスを誘導することを明らかにした。これらの結果は、ストレス応答によるアポトーシス誘導の新たな機構の存在を明示するものであり、よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値があるものと考えられる。