

Title	Salt-inducible kinase-1 represses cAMP-response element-binding protein activity both in the nucleus and in the cytoplasm
Author(s)	加藤, 芳子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45509">https://hdl.handle.net/11094/45509</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>〉</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	加藤 (橋本) 芳 子
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 19268 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 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Salt-inducible kinase-1 represses cAMP-response element-binding protein activity both in the nucleus and in the cytoplasm (核・細胞質における塩誘導性キナーゼ (SIK) の CREB 抑制機能)
論文審査委員	(主査) 教授 岡本 光弘  (副査) 教授 高井 義美 教授 谷口 直之

#### 論文内容の要旨

##### 〔目的〕

cAMP responsive binding protein (CREB) は cAMP-PKA シグナルで活性化される遺伝子発現調節における主要な転写因子であり、その転写活性化ドメインに存在する Ser133 のリン酸化は CBP/p300 等の Coactivator との相互作用を促し、基本転写因子群と協調して cAMP-responsive element (CRE) 依存的な転写を促進する。しかしながら近年、リン酸化 Ser133 非依存的な転写の存在が報告され、これまでは単なる CRE 結合領域とみなされていた bZIP ドメインが、実は転写活性そのものに重要な役割を持つことが示唆された。しかしながら、その具体的な調節機構の解明には至っていない。

塩誘導性キナーゼ (SIK1) は、ラット副腎皮質から高塩食処理時に特異的に誘導されるタンパクリン酸化酵素として単離された。SIK1 は cAMP-PKA シグナル系で誘導され、PKA で活性化される CRE 依存的転写を負に制御するフィードバック分子であり、その作用点は CREB の bZIP ドメインである。また、SIK1 は PKA により直接リン酸化され、それに伴う SIK1 の核-細胞質間の移行が CREB 抑制能に密接に関与する可能性が示唆された。

本研究は、SIK1 の細胞内局在と CREB bZIP を介した抑制機能との相関と、bZIP 制御分子の同定を目的として行った。

##### 〔方法ならびに成績〕

蛍光蛋白 GFP を用いた実験で、SIK1 のアミノ酸領域:586-612 が核内移行シグナルとして機能することを示した。この領域は既知の核内移行シグナルと同じく、Arg-、Lys-残基に富むことから RK rich region とした。次に RK rich region に典型的な NLS、NES を導入し、核と細胞質に特異的に存在する SIK 変異体を構築して核・細胞質型 SIK1 について CRE/CREB レポーターに対する影響を検討した。その結果、予想どおり核特異的に存在する SIK1 は転写を強く抑制した。しかし驚くべきことに、細胞質型 SIK1 も強い CRE 抑制作用を示すことがわかった。これは SIK1 の脂肪細胞特異的なアイソフォームである SIK2 が、細胞質に存在するにも関わらず SIK1 と同様に CREB 抑制作用を持つという以前の知見と一致する。

SIK1 と SIK2 について RK rich region を互いに入れ替えた chimera を作成し局在を観察したところ、chimera SIK1 (SIK2 の RK rich region を有す) は細胞質に存在し、chimera SIK2 (SIK1 の RK rich region を有す) は逆に核内に多く分布した。これら chimera の CREB 転写抑制能は野生型のものとは比べて差は見られなかった。

以上の結果は、RK rich region が SIK ファミリーの細胞内局在を決定する領域であること、また SIK1 が核のみならず細胞質においても CRE を抑制するという事を裏付ける。さらに、SIK1 の転写抑制作用には SIK1 酵素活性が必須であることから、SIK1 のリン酸化基質が細胞質-核間を移動し、CREB bZIP に結合して転写抑制に寄与する可能性が考えられる。

SIK の標的分子を検索した結果、近年新規 CREB coactivator として同定された TORC (Transducers regulated CREB activity) を見出した。TORC は3つのアイソフォームを持ち全身の細胞に発現している。その一つである TORC2 は定常状態では細胞質と核に存在しているが、cAMP-PKA シグナルで核に移行し、CREB bZIP に直接結合して転写を促進する。そこに SIK1 を共発現すると、TORC2 は細胞質に留まり、CREB を介した転写が抑制された。

#### [総括]

本研究で、SIK1 の細胞内局在を決定する領域と CREB 活性を調節する領域が重複することが明らかとなった。また、SIK1 が細胞内で CREB coactivator の一つである TORC をリン酸化することを明らかにした。SIK1 は TORC をリン酸化することで、TORC の核への移行を阻害し、CREB bZIP を介する転写活性を負に制御していることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

申請者は、塩誘導性キナーゼ (SIK) による CREB を介した転写抑制機構を解明する目的で、SIK の細胞内局在と転写調節の相関を検討した。その結果、これら二つの現象は SIK C 末端の重複する領域で担われているものの、別の機構で調節されているという事を明らかにした。その知見をもとに、SIK 基質の同定を試み、新規 CREB coactivator である TORC が SIK の基質かつ上記調節領域で支配される分子であることを証明した。

本論文は、様々な生命現象に関わる転写因子 CREB の機能調節解明の新たな展開を切り開いた点で、学位論文に値するものと認める。