

Title	Mnk2 and Mnk1 Are Essential for Constitutive and Inducible Phosphorylation of Eukaryotic Initiation Factor 4E but Not for Cell Growth or Development
Author(s)	上田, 健
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45520
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	上田 健 <small>うえだ たけし</small>
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 19269 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	Mnk2 and Mnk1 Are Essential for Constitutive and Inducible Phosphorylation of Eukaryotic Initiation Factor 4E but Not for Cell Growth or Development (ノックアウトマウスを用いた Mnk1, Mnk2 の生理的機能についての解析)
論文審査委員	(主査) 教授 長田 重一 (副査) 教授 高井 義美 教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

Mnk1 (MAP kinase signal-integrating kinase 1) と Mnk2 は、増殖因子やストレスにより活性化される Erk や p38 MAP キナーゼによって、直接リン酸化を受けて活性化されるセリン・スレオニンキナーゼであり、ともに各組織に普遍的に発現している。Mnk は、mRNA のキャップ依存的翻訳開始に中心的役割を果たす eIF4E (eukaryotic initiation factor 4E) のセリン残基 (Ser209) をリン酸化して、タンパク合成を制御することが示唆されている。本研究では、Mnk の生理作用を明らかにすることを目的として、Mnk1 及び Mnk2 欠損マウスを作製し、eIF4E リン酸化における Mnk の作用を解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

Mnk1 遺伝子はマウス 4 番染色体に、Mnk2 遺伝子はマウス 10 番染色体に存在する。それぞれの exon5-6、exon5-9 を neomycin 耐性遺伝子で置換し、定法に従って Mnk1, Mnk2 欠損 (Mnk1-KO, Mnk2-KO) マウスを作製した。さらにその交配によって Mnk1, Mnk2 二重欠損 (DKO (double KO)) マウスを作製した。

まず、MEF (mouse embryonic fibroblasts) を用いて細胞内の eIF4E リン酸化について検討した。野性型 MEF においては、血清刺激、TPA, anisomycin, UV-C, TNF- α , IL-1 β といった MAP キナーゼ活性化刺激により、Mnk1 と eIF4E Ser209 のリン酸化レベルの上昇が観察された。これに対し DKO マウス由来の MEF では、これら活性化刺激の有無に関わらず eIF4E Ser209 のリン酸化が認められなかった。さらに MEF を TPA で刺激して、eIF4E に対する ^{32}P 正リン酸の取り込みを検討した結果、野性型では刺激により ^{32}P の取り込みが上昇したのに対して、DKO では刺激の有無に関わらず eIF4E への ^{32}P の取り込みが全く検出されなかった。したがって MEF において、Mnk は eIF4E のリン酸化に必須であり、Ser209 が eIF4E の唯一のリン酸化部位であることが明らかとなった。一方 Mnk1-KO MEF の eIF4E リン酸化は TPA 刺激により増強されず、他方 Mnk2-KO MEF では、eIF4E の構成的リン酸化は野性型よりも低下しているが、刺激によりリン酸化が強く誘導された。以上より、Mnk1 は細胞外刺激によって誘導される eIF4E リン酸化に機能し、Mnk2 は eIF4E の構成的リン酸化に関与することが示された。また、こ

のことは Mnk1 と Mnk2 の上流でこれらの因子を活性化する機構が異なっていることを示唆している。

次にマウス個体における eIF4E のリン酸化を検討した。野性型マウスに MAP キナーゼ活性化刺激である lipopolysaccharide や insulin を投与すると、各組織において eIF4E のリン酸化レベルの上昇が観察されたのに対し、DKO マウスでは、投与の有無に関わらず eIF4E のリン酸化は全く検出されなかった。したがって MEF の場合と同様、生体においても Mnk は eIF4E のリン酸化に必須であることが明らかとなった。さらに Mnk1-KO、Mnk2-KO マウスの解析から、生体組織においても Mnk1 は eIF4E の刺激誘導的リン酸化に機能し、Mnk2 は eIF4E の構成的リン酸化に関与することが明らかとなった。

ところで、DKO では eIF4E のリン酸化が検出されなかったことから、MEF の蛋白合成を放射性アミノ酸の取り込みによって測定したが、野性型と DKO との間で有意差は認められなかった。したがって、eIF4E リン酸化は包括的なタンパク合成制御には関与しないことが示唆された。今後 eIF4E のリン酸化が、ウイルス蛋白合成、免疫反応や神経活動依存的翻訳など特異的翻訳制御に関与している可能性について検討する必要がある。

[総 括]

Mnk ノックアウトマウスの解析により、Mnk が eIF4E のリン酸化に必須であり、生体において eIF4E のリン酸化を担う唯一のプロテインキナーゼであることが明らかとなった。また Mnk1 は eIF4E の刺激誘導的リン酸化に機能し、Mnk2 は eIF4E の構成的リン酸化に関与するという役割分担のあることが明らかとなった。mRNA の選択的翻訳制御における eIF4E リン酸化の意義の解明が今後の課題である。

論文審査の結果の要旨

Mnk1 と Mnk2 は、Erk あるいは p38MAP キナーゼによって直接リン酸化を受けて活性化される基質として同定されたセリン・スレオニンキナーゼである。増殖因子やストレスにより活性化された Erk および p38 は Mnk を活性化し、Mnk はさらに下流の基質をリン酸化して、転写因子やタンパク合成因子の活性制御に機能していると考えられる。Mnk の基質として、mRNA キャップ依存的翻訳に中心的役割を果たしている翻訳開始因子 eIF4E が知られており、Mnk は eIF4E のセリン残基をリン酸化して、翻訳制御に関与することが示唆されていた。本研究では Mnk ノックアウトマウスを作製してその解析を行い、Mnk が生体において、eIF4E をリン酸化する唯一のプロテインキナーゼであることを明らかにした。また、Mnk1 は eIF4E の刺激誘導的リン酸化に機能し、Mnk2 は eIF4E の構成的リン酸化に関与するという役割分担のあることを示した。学位の授与に値すると考えられる。