The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of a novel substrate for TNFα-induced kinase NUAK2
Author(s)	山本, 博之
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49012
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【44】

氏　　名	山　本　博　之（やま　もと　ひろ　ゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２１８３４　号
学位授与年月日	平成 20 年３月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学　位　論　文　名	Identification of a novel substrate for TNFα-induced kinase NUAK2 （TNFαで誘導される NUAK2 キナーゼの新規基質同定）
論文審査委員	（主査） 教　授　武田　　裕 （副査） 教　授　澤　　芳樹　　教　授　宮崎　純一

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

サイトカインの一つであるTNFαは正常細胞や腫瘍細胞の両者において多数の重要な細胞機能を担っている。TNFαはアポトーシスによる細胞死のみならずNFκB転写因子を介した様々な遺伝子発現を調節している。TNFαは血管内皮細胞においてもTNFα受容体を発現しており、様々なケモカインや細胞接着因子を誘導するものの、その分子メカニズムは不明のままである。

〔　方法ならびに成績　〕

TNFα特異的な標的遺伝子の同定の為にヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）から抽出した mRNA を抽出し、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行った。TNFα誘導後２時間で上昇する遺伝子の内、ほとんどが既知のケモカインや受容体・接着因子・転写因子などのケモカイン関連分子であった。その中で唯一強力に上昇するキナーゼであるNUAK2に着目し、TNFαによるNUAK2の発現誘導をノザンブロット・ウエスタンブロットで確認した。NUAK2は AMPK ファミリーの一つで様々な細胞内ストレスで誘導されるキナーゼで、その発現誘導や発現メカニズムについては報告があるもののその特異的基質については全く不明であった。In vitro 燐酸化反応と逆相カラムクロマトグラィー（HPLC）を利用してNUAK2特異的な新規基質であるミオシンフォスファターゼ・サブユニット１（MYPT1）を同定した。MYPT1 はミオシンフォスファターゼ複合体の一つでミオシン軽鎖のリン酸化の脱リン酸化を介して細胞遊走に関与する。これまでRhoキナーゼ（ROCK）がMYPT1のリン酸化（Thr696、Thr853）を介してミオシンフォスファターゼ活性抑制に重要である事が報告されていたためにROCKとNUAK2との比較検討を行った。部位特異的燐酸化抗体（Thr696、Thr853）や部位特異的変異体（Thr→Ala）による検討にてNUAK2はROCKとは全く違う箇所でMYPT1を燐酸化する事が示された。

〔　総　　括　〕

今回我々は血管内皮細胞において TNFαにより遺伝子発現が優位に上昇する唯一のキナーゼとして NUAK2 を同定した。その特異的基質としてミオシンフォスファターゼ・サブユニット１（MYPT1）を同定した。MYPT1 は NUAK2

により既知の Rho キナーゼ燐酸化部位とは違う箇所で燐酸化されることが示された。Rho キナーゼは MYPT1 の燐酸化を介してミオシンフォスファターゼ活性の抑制を引き起こし細胞遊走等に関与することがこれまで報告されており、NUAK2 による MYPT1 の燐酸化は別の燐酸化部位を介した別の MYPT1 活性制御が示唆される。

論文審査の結果の要旨

血管内皮細胞は心不全や急性心筋梗塞などの病態において TNFα の主たる標的であるが、その多岐にわたる機能を網羅的に解析した研究報告は少ない。

申請者らは TNFα シグナルの解明のために DNA マイクロアレイ解析をし、血管内皮細胞で強力に発現誘導される NUAK2 キナーゼに着目しその基質である MYPT1 を同定した。

申請者らが同定した MYPT1 はこれまでミオシンのリン酸化制御に関与しているとされており、Rho キナーゼによる MYPT1 リン酸化と細胞機能に関する報告は数多くあるが、今回 NUAK2 による MYPT1 リン酸化が Rho キナーゼとは異なる部位でリン酸化することにより MYPT1 活性を制御するという、新たなメカニズムの可能性とゼブラフィッシュを用いた NUAK2 遺伝子欠損個体の解析にて生体内における NUAK2 の重要性を示した点で重要な知見を提供しており、学位に値するものと認める。