



Title	Identification of a novel substrate for TNF α -induced kinase NIAK2
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

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 2 1 8 3 4 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 TNF α -induced kinase NIAK2 (TNF α で誘導される NIAK2 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 TNF α 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。TNF α はアポトーシスによる細胞死のみならず NF κ B 転写因子を介した様々な遺伝子発現を調節している。TNF α は血管内皮細胞においても TNF α 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 〕

TNF α 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。TNF α 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 NIAK2 に着目し、TNF α による NIAK2 の発現誘導をノザンブロット・ウェスタンブロットで確認した。NIAK2 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な基質については全く不明であった。In vitro 磷酸化反応と逆相カラムクロマトグラフィー (HPLC) を利用して NIAK2 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 NIAK2 との比較検討を行った。部位特異的な磷酸化抗体 (Thr696、Thr853) や部位特異的な変異体 (Thr $\rightarrow$ Ala) による検討にて NIAK2 は ROCK とは全く違う箇所 MYPT1 を磷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 TNF α 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 NIAK2 を同定した。その特異的な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 NIAK2

により既知の Rho キナーゼリン酸化部位とは違う箇所でもリン酸化されることが示された。Rho キナーゼは MYPT1 のリン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 のリン酸化は別のリン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 $\text{TNF}\alpha$ 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 $\text{TNF}\alpha$ 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。