

学位論文内容抄要旨

論文題目

Ras タンパク質プロセッシング制御における c-Jun N-terminal kinase の役割の解明

指導（紹介）教授：嘉山孝正

申請者氏名：毛利 渉

[背景]

ras 遺伝子によりコードされるタンパク質(Ras)は分子量 21kDa の低分子量 G タンパク質であり、細胞内シグナル伝達因子として様々な細胞機能の発現に関与している。近年 Ras 蛋白質の新たな機能の一つとして non-apoptotic プログラム細胞死の誘導における役割が明らかにされた。さらにこの Ras 依存的に誘導される non-apoptotic 細胞死が Ras の異常活性化を伴うがん細胞の排除、すなわちがん抑制機構として機能していることもわかってきた。しかしながら Ras の活性化がどのような分子機構によって non-apoptotic プログラム細胞死を誘導しているかについてはまだ不明な点が多い。そこで、本研究ではこの Ras 依存的 non-apoptotic 細胞死の分子機構の解明を試みた。特に本研究では Ras によって活性化されることが知られており、かつ近年種々の non-apoptotic 細胞死に関与していることが報告されている c-Jun N-terminal kinase (JNK)に注目し、Ras 依存的プログラム細胞死への関与について検討を行った。

[方法および結果]

実験開始時は、Ras により活性化された JNK が non-apoptotic 細胞死を誘導しているとの作業仮説に基づき検討を行った。まずトランスフェクションにより高発現させた Ras により神経芽腫細胞株 SH-SY5Y の細胞死が誘導される過程で JNK の活性化が起きているかどうか検討した。その結果、活性型 Ras が JNK を活性化したのに対して不活性型 Ras は JNK を活性化せず、確かに Ras がその活性依存的に、すなわち細胞死誘導と平行に、JNK を活性化していることが確認された。次いでこの JNK の活性化が細胞死誘導に必要とされるかを JNK の特異的阻害剤 SP600125 を用いて検討したところ、SP600125 は濃度依存的に JNK の活性と Ras による細胞死誘導を抑制した。以上の結果は当初の作業仮説を支持するものであったが、SP600125 が Ras の発現に対して予想外の影響を及ぼしていないか確認実験を行ったところ、SP600125 は Ras の発現そのものは抑制しないが、Ras の C 末端プロセッシングを抑制しているという予想外の実事が明らかになった。この SP600125 による Ras プロセッシングの抑制は神経芽腫細胞だけでなく、同じく神経系由来であるグリオーマ細胞株 T98G、さらには非神経系由来の細胞である子宮頸がん細胞株 HeLa でも認められた。また、JNK の優性抑制変異体を発現させた場合も SP600125 の場合と同様に Ras のプロセッシングが抑制された。さらに、SH-SY5Y 細胞が内因性に発現する H-Ras、および膵がん細胞株 PANC-1 が発現する内因性 H-Ras および K-Ras (変異 K-Ras) に対する SP600125 の効果を検討したところ、いずれの内因性 Ras 蛋白質もプロセッシングの抑制が観察された。

[結論]

以上の結果は Ras 蛋白質のプロセッシングに JNK の活性が必須であることを示しており、またこの JNK 依存的 Ras プロセッシングが生理的条件下で細胞種を越えて観察される普遍的な現象である可能性を示唆している。従来 JNK は専ら Ras の「下流」でシグナル伝達に関わっていると考えられてきたが、今回の結果はそのような従来の考え方に変更を迫るものであり、JNK が Ras の「上流」で機能することにより Ras 依存的 non-apoptotic 細胞死の制御に関与していることを示している。また、Ras は従来 GTP/GDP 交換により短期的に活性制御が行われると考えられてきたが、今回の結果から JNK 依存的なプロセッシング制御による中長期的な Ras 活性制御の可能性が新たに考えられるようになった。

平成 18 年 2 月 6 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：毛利 渉

論文題目：Ras タンパク質プロセッシング制御における
C-Jun N-terminal kinase の役割の解明

審査委員：主審査委員 本山 悌一

副審査委員 早 乙三 (下)

副審査委員 木村 理

審査終了日：平成 18 年 2 月 2 日

【 論文審査結果要旨 】

ras 遺伝子産物の Ras は、non-apoptotic プログラム細胞死において重要な役割を果たしていることが近年明らかにされたが、どのような分子機構によって non-apoptotic 細胞死を誘導しているかについてはまだ不明な点が少ない。

毛利君は、やはり non-apoptotic 細胞死に関与していることが知られ、かつ Ras によって活性化されることも知られている c-Jun N-terminal kinase(JNK)に着目し、Ras 依存性プログラム細胞死における JNK の役割について解明することを目的としてこの研究を開始した。

まずトランスフェクションにより Ras を高発現させた神経芽腫由来の SH-SY5Y 細胞株を用いて活性型 Ras が JNK を活性化することを確認した。次いで JNK の活性化が細胞死誘導に必須なものであるか否かを JNK 特異的阻害剤である SP600125 を用いて検討している過程で、SP600125 は Ras の発現そのものは抑制しないが Ras の C 末端プロセッシングを抑制しているという予想外の事実を見出した。さらにこのプロセッシングの抑制は非神経系由来細胞でも起こること、内因性 Ras においても起こることを確認した。

以上の結果は、従来 JNK は専ら Ras の下流でシグナル伝達に関わっていると考えられてきたことに対し、Ras の上流でも機能することにより Ras 依存性 non-apoptotic 細胞死の制御に関与していることを示す新たな発見であり、分子標的がん治療への道を開くものでもある。論文内容は、学位（医学博士）請求論文として質の高いものであると審査員の評価は全員一致した。

(1, 200 字以内)