

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 米山 鷹介

インスリンは、糖・脂質などの同化反応を促進し、動物の物質代謝の制御に重要な役割を果たしている。一方、インスリン様成長因子 (IGF) は、多くの細胞の増殖・分化を誘導、細胞死を抑制し、動物の成長や発達に必須な役割を担っている。これらのホルモンは細胞膜上の特異的受容体に結合すると内蔵されたチロシンキナーゼを活性化し、インスリン受容体基質 (IRS) をチロシンリン酸化する。このリン酸化 IRS を認識して phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase) などのシグナル分子が結合し下流シグナル経路が活性化される結果、広範な生理活性が誘導される。従来、インスリン/IGF の受容体は細胞膜上で活性化されるため、IRS も細胞膜近傍でチロシンリン酸化され下流へシグナルを伝達すると考えられてきた。しかし、申請者や他の研究グループは、IRS の分子種の一つである IRS-1 が細胞膜ばかりでなく、細胞内の小胞構造へも存在していることを見出した。そして、インスリン/IGF 受容体が、リガンド依存的に細胞内へインターナライゼーションすることを併せ、細胞膜だけでなく、細胞内小胞もインスリン/IGF シグナル伝達を仲介する場として機能し得る可能性を指摘してきた。しかし、IRS-1 の細胞内配置を制御する分子メカニズムや、IRS-1 が細胞内小胞と細胞膜、それぞれの存在部位においてどのような役割を担っているかについてほとんど明らかにされていない。

細胞の置かれた状態に応答して起こる IRS を介したインスリン/IGF のシグナル伝達・生理活性の増強あるいは抑制機構を解析している過程で、申請者の研究グループでは IRS が他の多くのタンパク質と複合体を形成しており、これらを介してインスリン/IGF シグナル・活性の修飾が起こることを見出した。更に、IRS と相互作用する分子群の網羅的解析により、IRS-1 がクラスリン被覆小胞のアダプター分子である adaptor protein (AP)-1A および AP-2 複合体のサブユニット、 μ 1A および μ 2 と相互作用することを発見している。そこで本論文では、IRS-1 が AP-1A/AP-2 複合体と相互作用することに着目し、IRS-1 が細胞内小胞と細胞膜へ配置される分子機構とそれぞれの部位で IRS-1 が IGF の活性発現に果たす役割を明らかにすることを目的としている。

学位論文は、第一章は序論、第二章は材料と方法、本論が三章、そして第六章の総合討論などからなっている。

第一章序論では、本研究の背景および意義を概説し、本研究の目的と本論文の構成について述べ、第二章では本論文で用いた材料と方法について説明している。

第三章では、AP-1A 複合体による IRS-1 の細胞内小胞への配置機構とその生理的意義の解明について述べている。まず、内在性 IRS-1 が μ 1A サブユニットを介して AP-1A 複合体と相互作用することを確認した。IRS-1 が μ 1A との結合に必要なモチーフを調べた結果、IRS-1 の中央領域に存在する 3 ヶ所の Yxx ϕ モチーフが μ 1A 結合部位として機能していることを見出した。更に、IRS-1 は AP-1A 複合体と相互作用して後期エンドソームから周辺の小胞へ輸送されることが明らかにした。その生理的意義として、AP-1A 複合体によって細胞内小胞へ輸送された IRS-1 が、

IGFによる細胞増殖誘導に必要であることがわかった。

第四章では、細胞膜上に配置する IRS-1 と AP-2 複合体の相互作用機構とその生理的意義について述べている。まず、IRS-1 が $\mu 2$ を介して AP-2 複合体と相互作用することを確認し、更に、細胞膜上において IRS-1 が F-アクチンを足場として AP-2 複合体の細胞内配置を決定していることを見出した。IRS-1 は積荷タンパク質を認識する $\mu 2$ サブユニットに直接結合することから、IRS-1 が AP-2 複合体の他の積荷タンパク質輸送を競合的に抑制する可能性が考えられた。そこで、この可能性を検討した結果、IRS-1 過剰発現が IGF-I 受容体 (IGF-IR) のインターナリゼーションを変化させることを発見した。他の結果も併せ、IRS-1 は、細胞膜で AP-2 複合体を F-アクチン上へリクルートし、AP-2 複合体による IGF-IR のインターナリゼーションを阻害する、いわば「エンドサイトーシス調節タンパク質」として機能していると結論している。

第五章では、IRS 分子種の細胞内配置を決定するタンパク質の相互作用ネットワークの網羅的解析を行っている。生細胞の状態で IRS の近傍に位置する分子をビオチン標識できる BioID 法を用いて、IRS の近傍に存在する分子群を網羅的に同定し、主に、IRS-1 はエンドソームや F-アクチン近傍に、IRS-2 は主に細胞質に、IRS-3 は核に存在することを示唆するタンパク質群とそれぞれの IRS の分子種が相互作用することが明らかとなった。

これらの研究成果をもとに、第六章では、インスリンと IGF の生理活性発現やその調節において、種々の細胞画分に配置された IRS が果たす役割について、総合的に討論している。

このように、本研究では、本研究の成果から、細胞内小胞と細胞膜という異なる細胞部位への IRS-1 の配置が調節されることによって、IGF のシグナル伝達や活性発現が緻密に制御されるというインスリン様活性の新しい制御機構が稼働していることをはじめて明らかにしたもので、学術上・応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士 (農学) の学位として価値あるものと認めた。