

## 論文内容の要旨

申請者氏名 金児貴子

低分子量 GTP 結合蛋白質 Rho は外界シグナルの下流で細胞形態、細胞運動、平滑筋収縮、神経突起退縮などの細胞現象を制御することが知られている。本研究で申請者は Rho/Rho-kinase による細胞機能制御機構を明らかにすることを目的として、Rho の effector 分子である Rho-kinase の新規基質蛋白質の探索を行った。その結果、2つの新規基質蛋白質 calponin, endophilin を同定した。

calponin は平滑筋組織に豊富に存在するアクチン結合蛋白質であり、アクチンに結合し、アクトミオシン系の収縮を抑制していると考えられている。そこで、Rho-kinase による calponin の制御機構の解析を行い、以下の結果を得た。

- 1) Rho-kinase は calponin をリン酸化する。
- 2) Rho-kinase による calponin のリン酸化部位を同定した。
- 3) calponin のアクチンへの結合が Rho-kinase により抑制されることを見出した。

以上の知見から、calponin は Rho の下流で、Rho-kinase を介したリン酸化を受け、actomyosin 系細胞骨格の制御を行っている可能性が考えられる。

一方、endophilin はクラスリン依存的なエンドサイトーシスに関与することが示唆されている蛋白質である。また、Rho がクラスリン依存的なエンドサイトーシスに関与する可能性が示唆されているが、その分子メカニズムや生理的意義については明らかにされていない。Rho-kinase による endophilin を介したクラスリン依存的なエンドサイトーシスの制御機構の解析を行うことにより、Rho によるエンドサイトーシス制御機構が明らかになると考え解析を行い、以下のような結果を得た。

- 1) endophilin は Rho-kinase によりリン酸化される。
- 2) Rho-kinase による endophilin のリン酸化部位を同定した。
- 3) endophilin のリン酸化型を模倣した変異体を細胞に過剰発現させたところ、クラスリン依存的なエンドサイトーシスである、トランスフェリン受容体の取り込みが阻害された。活性化型 Rho を過剰発現させるとトランスフェリン受容体の取り込みが阻害されることが知られているが、この効果は endophilin の非リン酸化型を模倣した変異体の過剰発現により阻害された。

以上の結果より、Rho/Rho-kinase が endophilin のリン酸化を介してクラスリン依存的なエンドサイトーシスを制御する可能性が示唆される。また、Rho/Rho-kinase が従来考えられてきた細胞骨格系の制御のみならず、受容体のエンドサイトーシスを制御し得る可能性を示唆するものである。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 金児 貴子

低分子量 GTP 結合蛋白質 Rho は外界シグナルの下流で細胞形態、細胞運動、平滑筋収縮、神経突起退縮などの細胞現象を制御することが知られている。本研究で申請者は Rho/Rho-kinase による細胞機能制御機構を明らかにすることを目的として、Rho の effector 分子である Rho-kinase の新規基質蛋白質の探索を行った。その結果、2つの新規基質蛋白質 calponin, endophilin を同定した。

calponin は平滑筋組織に豊富に存在するアクチン結合蛋白質であり、アクチンに結合し、アクトミオシン系の収縮を抑制していると考えられている。申請者は calponin のアクチンへの結合が Rho-kinase により抑制されることを見出し、calponin は Rho の下流で、Rho-kinase を介したリン酸化を受け、アクトミオシン系細胞骨格の制御を行っている可能性が考えられる。Rho/Rho-kinase 系のシグナルは近年、平滑筋の異常収縮を介して狭心症や肺高血圧症などの病態に、また、平滑筋細胞やマクロファージの遊走を介して動脈硬化病変の形成に密接に関与していることが示唆されており、臨床的にも注目されている。申請者は本研究において、これら臨床的に重要な疾患に対する分子メカニズムの一端を明らかにした。

一方、endophilin はクラスリン依存的なエンドサイトーシスに関与することが示唆されている蛋白質である。また、Rho がクラスリン依存的なエンドサイトーシスに関与する可能性が示唆されているが、その分子メカニズムや生理的意義については明らかにされていない。そこで、申請者は Rho-kinase による endophilin を介したクラスリン依存的なエンドサイトーシスの制御機構の解析を行うことにより、Rho によるエンドサイトーシス制御機構を明らかにすることを目的とし解析を行った。その結果、Rho/Rho-kinase が endophilin のリン酸化を介してクラスリン依存的なエンドサイトーシスを制御する可能性が示唆する結果を得た。本研究において Rho/Rho-kinase が従来考えられてきた細胞骨格系の制御のみならず、現在まで明らかにされて来なかった Rho/Rho-kinase によるエンドサイトーシスの制御機構の一端を明らかとした。

以上のように、本論文は細胞内で様々な細胞機能を制御し、重要な役割を果たしていると考えられている Rho/Rho-kinase の新たな制御機構の一端を明らかにするものであり、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（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。