

氏名	森本 睦
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬科学専攻
学位授与番号	博甲第 7040 号
学位授与の日付	令和 6 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科薬科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	タンパク質付加体形成を介したメチルビニルケトンの成長因子シグナル伝達調節機構
論文審査委員	教授 小野 敦 (主査) 准教授 古田 和幸 准教授 丸山 正人

学位論文内容の要旨

メチルビニルケトン (MVK) は、タバコ煙や排気ガスに多く含まれている環境化学物質である。MVK は親電子性の高い α, β -不飽和カルボニル基を有していることから、マイケル付加反応を介して、タンパク質中のシステイン (Cys) 残基などの求核性を有するアミノ酸と共有結合し、タンパク質付加体を形成することが知られている。しかしながら、これまで高濃度 MVK 曝露による細胞毒性評価などの成果しか発表されておらず、その標的タンパク質や付加体形成による生理機能への影響はほとんど解析されていない。当研究室ではこれまでに、一酸化窒素や 1,2-ナフトキノンが特異的なタンパク質付加体形成を介して、ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) –Akt シグナリングを制御することを明らかにしている。そこで本研究では、MVK による PI3K–Akt シグナリングへの影響に着目し、その制御機構や薬理作用について詳細な解析を行った。さらに、MVK と構造類似性を有する種々の環境化学物質による PI3K–Akt シグナリングへの評価も行った。

ヒト肺胞上皮腺癌由来 A549 細胞に MVK を前処理し、成長因子による刺激を行ったところ、MVK は上皮増殖因子 (EGF) やインスリン刺激による PI3K や Akt のリン酸化を濃度依存的に抑制したが、EGF 受容体 (EGFR) やインスリン受容体のリン酸化には影響しないことが分かった。このことから、MVK は受容体の下流に位置する PI3K に作用することが予想された。興味深いことに、MVK は PI3K 活性には影響しない一方で、EGFR と PI3K との結合を阻害することが明らかとなった。さらに、LC-MS/MS 解析により MVK は PI3K p85 サブユニットの Cys656 に共有結合することが示された。また、MVK 標的 Cys 残基を置換した変異体を用いた解析から、p85 Cys656 が EGFR–PI3K 結合に重要であることを見出した。続いて、MVK による成長因子シグナリングの減弱が、オートファジーやグルコース取り込みに及ぼす影響を解析したところ、MVK は EGF によるオートファジー抑制効果や、グルコース取り込み促進効果を負に制御することを明らかにした。さらに、アクロレインやクロトンアルデヒド、エチルビニルケトンなどの MVK と高い構造類似性を有する環境化学物質は Akt リン酸化抑制効果に有意な相関関係があることが認められた。

以上より、MVK は PI3K p85 と付加体を形成し、EGFR–PI3K 結合を阻害することで、オートファジーやグルコース取り込みに関連した下流シグナリングを負に制御することを明らかにした。加えて、MVK と構造類似性を有する化学物質はその標的が類似する可能性が高いことが明らかとなった。

論文審査結果の要旨

メチルビニルケトン (MVK) は、タバコ煙や排気ガスに含まれる親電子性物質であり α , β -不飽和カルボニル基により、マイケル付加反応を介して、タンパク質中のシステイン残基やリジン残基などの求核性を有するアミノ酸と共有結合し、タンパク質付加体を形成することが知られている。本研究では、MVKによるPI3K-Aktシグナリング系への影響について細胞を用いて分子生物学的な解析を行い、PI3KやAktのリン酸化抑制、PI3K p85修飾を介したEGFR結合阻害、オートファジー抑制の打ち消し作用やグルコース取り込みの減弱作用などを明らかにした。特に、これらの作用がこれまでに知られているPI3K阻害作用と異なるメカニズムである、MVKによる p85 Cys656修飾によることを明らかにした。さらに、MVK と構造類似性を有する種々の環境化学物質による PI3K-Aktシグナリングへの評価を行い、MVKと高い類似性を有する α , β -不飽和カルボニル構造を有する化学物質がAktリン酸化抑制効果を示すことを明らかにした。

審査委員会では、結果の解釈等について議論を行い、緒言や考察等の一部修正、および記載の不備や統一について指摘を行った。後日、修正版が提出され、審査委員会での指摘を踏まえた適切な追加・修正がなされていることを確認した。本研究で、得られた知見はいずれも新規性が高く、本論文は博士論文として十分な質と量を備えており、博士(薬科学)の学位に値するものと判断した。