

# 論文内容要旨

トレハロースによる Akt 発現量低下と  
そのメカニズムに関する研究

主指導教員：古武 弥一郎教授  
(医系科学研究科 生体機能分子動態学)

副指導教員：松浪 勝義教授  
(医系科学研究科 生薬学)

副指導教員：熊谷 孝則准教授  
(医系科学研究科 治療薬効学)

梅田 香苗

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【序論】

オートファジー・リソソーム経路 (ALP) は細胞内成分を隔離膜で取り囲みリソソームで大規模に分解する細胞内分解系の一つであるが、この機能に異常をきたすと、神経変性疾患など様々な疾患の発症につながる可能性が指摘されている。そのため、ALP の機能を亢進する物質の探索やそのメカニズム解明は、このような疾患の治療戦略を進めるうえで重要であると考えられる。近年、天然に存在する非還元性二糖類であるトレハロース (高用量: 3 g/kg 強制経口投与や 2 % 含有水飲水投与など) が、ALP 機能亢進を介して神経変性疾患などの疾患症状を緩和することが、モデル動物などを用いた実験で明らかになりつつある (DeBosch *et al.*, *Sci. Signal.*, 2016; Palmieri *et al.*, *Nat. Commun.*, 2017)。また、そのメカニズムとして、100 mM トレハロースが Akt 活性低下 (リン酸化レベルの低下) を介して ALP 関連遺伝子のマスターレギュレーターである転写因子 TFEB を核に移行させ、ALP 関連遺伝子の発現を促進することが報告されている (Palmieri *et al.*, *Nat. Commun.*, 2017)。

しかし、トレハロースが Akt 活性低下を引き起こす詳細なメカニズムは未だ不明である。そこで本研究ではトレハロースによる Akt 活性低下メカニズムを明らかにすることを目的とした。

## 【結果】

### 1. トレハロースが ALP 関連タンパク質発現量に及ぼす影響

トレハロースは 24 時間曝露後において、先行研究と同様にオートファゴソームマーカー LC3-II 及びオートファジーアダプター p62 の増加を引き起こした。また、TFEB の核移行も認められた。

### 2. トレハロースが p-Akt/Akt タンパク質発現量に及ぼす影響

トレハロースは 24 時間曝露後において、先行研究と同様に、p-Akt の発現量低下を引き起こした。このときトレハロースは、p-Akt のみならず 総 Akt タンパク質発現量低下を引き起こすことが明らかになった。また、トレハロースは同条件において、Akt のアイソフォーム Akt1、Akt2、Akt3 全てのタンパク質発現量低下を引き起こした。

### 3. トレハロースが AKT mRNA 発現量に及ぼす影響

トレハロースは 6 時間曝露後において、AKT1、AKT2、AKT3 の mRNA 発現量低下を引き起こした。AKT1 mRNA 発現量低下はトレハロース曝露後 24 時間まで維持されていたが、AKT2 及び AKT3 mRNA 発現量は回復または増加傾向にあった。

### 4. トレハロースが p-c-Jun/c-Jun 及び p-JunB/JunB タンパク質発現量に及ぼす影響

次に、トレハロースによる AKT mRNA 発現量低下メカニズムを調べるため、トレハロースが細胞内シグナル伝達に関わる種々のタンパク質のリン酸化レベルに及ぼす影響を評価した。その結果、転写因子複合体 AP-1 の構成因子 c-Jun のリン酸化レベル低下が認められた。このときトレハロースは、p-c-Jun のみならず 総 c-Jun タンパク質発現量低下を引き起こした。また、c-Jun のファミリータンパク質 JunB においても、同様の結果が認められた。

### 5. プロテアソーム阻害剤がトレハロースによる c-Jun/JunB 発現量低下に及ぼす影響

プロテアソーム阻害剤 MG132 存在下において、トレハロースによる c-Jun の発現量低下は認

められなかった。また、JunBにおいても、同様の結果が認められた。

#### 6. c-Jun/JunB 過剰発現がトレハロースによる Akt 発現量低下に及ぼす影響

c-Jun/JunB を含む転写因子複合体 AP-1 は *AKT* 遺伝子のプロモーター領域に結合し、その mRNA 及びタンパク質発現を正に制御することが報告されている (Atsavas *et al.*, *Leukemia.*, 2015)。しかし、本研究において、c-Jun/JunB 過剰発現によるトレハロース誘発 Akt タンパク質発現量低下の抑制は認められなかった。

##### 【考察及び総括】

本研究では、トレハロースが Akt の mRNA 及び総タンパク質の発現量低下を引き起こすことを明らかにした。また、トレハロースが転写因子複合体 AP-1 の構成因子 c-Jun/JunB のプロテアソーム分解を促進することを見出した。AP-1 は *AKT* mRNA の発現を正に制御することが報告されているが (Atsavas *et al.*, *Leukemia.*, 2015)、c-Jun/JunB の過剰発現実験より、トレハロース誘発 Akt 発現量低下における c-Jun/JunB の寄与は小さいことが予想された。従って、*AKT* mRNA 発現量低下には他の転写因子の活性低下が関与する可能性が考えられる。今後、トレハロース誘発 Akt 発現量低下のメカニズムや Akt 活性低下を介した ALP 機能亢進との関連性が明らかになれば、ALP 関連疾患の治療戦略開発の一助となることが期待される。また、トレハロースによる c-Jun/JunB 発現量低下がもたらす細胞内影響を明らかにすることは、トレハロースの作用を理解するうえで重要であると考えられる。