

主 論 文 要 旨

報告番号	㊦ 乙 第	号	氏 名	高綱 大士
主 論 文 題 目： NF-κB 活性化シグナルの新しい機構と生理活性物質による制御				
(内容の要旨) NF-κB は、炎症・免疫において重要な転写因子である。NF-κB 活性化は、広範な疾病のシグナル伝達において認められる。しかしながら、NF-κB 活性化の分子メカニズムは一部解明されているが調節因子には未知のものが多いと考えられる。そこで、本研究において、IL-1 シグナルにおいて、NF-κB 活性化の機構に関与する新しいタンパク質の機能を解析し、一方で阻害剤を用いて、NF-κB の骨破壊における新しい役割を探索した。 IL-1 シグナルについて、主要な伝達因子である TRAF6 に結合するタンパク質の同定を yeast 2-hybrid 法を用いて行ったところ、新規タンパク質 TRAF interacting protein with an FHA domain (TIFA) を同定した。TIFA は、リン酸化タンパク質結合ドメインである、FHA ドメインと、TRAF6 結合配列を有していた。過剰発現系において、TIFA は NF-κB および JNK を活性化した。しかしながら、TIFA の TRAF6 と結合できなくなる変異体および FHA ドメインの変異体は、NF-κB と JNK の活性化を誘導しなかった。また、過剰発現系において、TIFA は、TRAF6 とその上流の因子である IRAK1 の結合を増強した。内在性タンパク質について解析を行ったところ、TIFA は、TRAF6 と定常的に結合しており、IRAK1 と IL-1 刺激依存的に結合していた。したがって、新規 TRAF 結合タンパク質 TIFA は IL-1 シグナルにおいて、IL-1 刺激依存的に TRAF6 と、IRAK1 の結合を引き起こすことによって、NF-κB の活性化を誘導することが示唆された。 一方、骨代謝は、破骨細胞と骨芽細胞の二つの細胞によって担われており、このバランスが崩れて破骨細胞が過剰に活性化されると骨粗鬆症などの骨代謝病になることが知られている。そこで、破骨細胞の分化や活性化の抑制が治療の標的となっている。破骨細胞分化においては、RANK シグナルが主要な役割をになっており、RANK シグナルは、NF-κB を活性化することが知られている。したがって、NF-κB の活性化を抑えることにより、過剰な破骨細胞の分化、活性化を抑制できると考えられる。そこで、新規 NF-κB 阻害剤 (-)-DHMEQ の破骨細胞分化の抑制効果を調べた。(-)-DHMEQ は、マクロファージ細胞株 RAW264.7 および骨髄細胞由来マクロファージ(BMM)において RANKL 刺激での NF-κB 活性化を抑制し、さらに RANKL 刺激による、破骨細胞分化を増殖を抑制しない濃度で抑制した。分化抑制の機構を解析したところ、(-)-DHMEQ は、BMM において RANKL 刺激による NFATc1 の発現を抑制することが分かった。一方、RANKL 刺激による TRAF6、c-Fos の発現誘導およびカルシウム流入は、抑制しなかった。さらに、(-)-DHMEQ は成熟破骨細胞の骨吸収作用を抑制した。最後に、(-)-DHMEQ は、 <i>in vivo</i> において LPS 誘導骨破壊モデルを抑制した。したがって、RANK シグナルにおいて、NF-κB が NFATc1 の発現を制御していることが明らかになった。さらに、NF-κB 阻害剤(-)-DHMEQ は、 <i>in vitro</i> と <i>in vivo</i> の系において破骨細胞分化ならびに活性化能を抑制した。 このように、IL-1 シグナルにおいて、新規 TRAF 結合因子 TIFA を同定し、TIFA が IL-1 刺激依存的に TRAF6 と IRAK1 の結合を増強することで、下流にシグナルを伝達し、NF-κB の活性化を引き起こすことが分かった。さらに、RANK シグナルにおいては、NF-κB が NFATc1 の発現を制御していることを見出し、新規 NF-κB 阻害剤(-)-DHMEQ が、リウマチ、多発性骨髄腫などの有用な治療薬となる可能性が示唆された。				