

学位論文 博士(理学)

分子デザインされた NF- κ B 阻害剤の新規作用機構

平成 23 年度

慶應義塾大学大学院理工学研究科

竹入 雅敏

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	竹入 雅敏
主 論 文 題 目 :				
分子デザインされた NF- κ B 阻害剤の新規作用機構				
(内容の要旨)				
<p>NF-κB は免疫応答や組織形成の制御にとって重要である一方、過剰な活性化は炎症性疾患や癌の原因となる。NF-κB は p65、RelB、c-Rel、p50、p52 からなる Rel family タンパク質の homo- または heterodimer によって構成される。NF-κB 活性化経路には、p65/p50 を主たる構成因子とし、即時的免疫応答や炎症を活性化する canonical 経路と、RelB/p52 を主たる構成因子とし、B 細胞成熟や自己免疫疾患、一部の癌に關与する noncanonical 経路がある。本論文では、分子デザインされた2つのNF-κB 阻害剤(-)-DHMEQ と DTCM-glutarimide の新しい作用機構について記述している。</p> <p>序論では、NF-κB 活性化経路と炎症、癌への寄与、および本論文で用いた NF-κB 阻害剤の知見をまとめ、本研究の意義を示した。</p> <p>第1章では、NF-κB 阻害剤(-)-DHMEQ の noncanonical NF-κB 活性化経路に対する抑制効果を調べ、標的分子の特定を行った。その結果、(-)-DHMEQ は RelB の 144Cys に共有結合し、DNA 結合および活性化を阻害することを見出した。</p> <p>第2章では、(-)-DHMEQ による成人 T 細胞白血病(ATL)細胞で活性化している noncanonical NF-κB の阻害機構を調べた。その結果、(-)-DHMEQ が noncanonical NF-κB の DNA 結合と核局在を顕著に阻害することが分かった。さらに、(-)-DHMEQ が noncanonical NF-κB のタンパク質レベルでの不安定化を誘導していることが分かった。次に、RelB の mutant タンパク質を培養細胞に導入し、(-)-DHMEQ の機構解析と noncanonical NF-κB 活性化の抑制機構解析を行った。その結果、(-)-DHMEQ 処理、または mutant タンパク質発現 によって noncanonical NF-κB の DNA 結合能を欠損させると、核局在が抑制されること、および、タンパク質レベルでの不安定化が誘導されることが分かった。さらに、核へ移行できない noncanonical NF-κB mutant もタンパク質レベルで不安定になった。この結果から、DNA 結合能が noncanonical NF-κB の細胞内局在を制御し、安定性に大きく寄与していることが分かった。また、DNA に結合出来ない RelB の構造は importin-αにも結合しにくくなっている知見も得られた。</p> <p>第3章では、NF-κB 阻害剤 9-methylstreptimidone 類似体の構造活性相関および、NF-κB 活性化に与える効果の検討を行った。その結果、9-methylstreptimidone の活性には不飽和疎水性部位の構造が重要であることが分かり、また、新たな抗癌剤シード候補化合物も得られた。さらに、9-methylstreptimidone 誘導体、DTCM-glutarimide が細胞毒素 lipopolysaccharide (LPS)短時間刺激で活性化する NF-κB には影響を与えないのに対し、LPS 長時間刺激によって活性化する RelB を含んだ NF-κB の活性化を抑制することが分かった。この結果から、LPS による iNOS の発現には、LPS 長時間刺激によって活性化する NF-κB が大きく寄与していることが示唆された。</p> <p>本研究によって解明された、分子デザインされた NF-κB 阻害剤の新規阻害機構と NF-κB の制御機構は、今後の自己免疫疾患や癌治療の発展に大きく貢献するものであると考えられる。</p>				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Fundamental Science and Technology	Student Identification Number 80947559	SURNAME, First name TAKEIRI, Masatoshi
Title Novel inhibitory mechanisms of designed NF- κ B inhibitors		
Abstract <p>NF-κB contributes to the immune response and tissue stability. In one hand, excess activation of NF-κB often causes inflammatory diseases and progression of cancer. Structurally NF-κB is a homo- or heterodimers of Rel family proteins, including p65, RelB, c-Rel, p50 and p52. NF-κB is activated by two different pathways, canonical and noncanonical pathway. Activation of the canonical NF-κB consisting of p65 and p50 is important for the immediate immune responses and inflammation. Noncanonical NF-κB consisting of RelB and p52 is important for B-cell maturation, the autoimmune diseases, and neoplastic diseases. In this thesis, novel inhibitory mechanisms of molecular designed two NF-κB inhibitors, (-)-DHMEQ and DTCM-glutarimide, are described.</p> <p>In introduction, the mechanism of NF-κB activation, its involvement on inflammation and malignant diseases, and characters of NF-κB inhibitors used are described.</p> <p>In the 1st chapter, I have examined the effect of (-)-DHMEQ on noncanonical NF-κB activation. As a result, (-)-DHMEQ covalently bound to 144Cys of RelB and inhibited DNA binding and its activity.</p> <p>In the 2nd chapter, I focused on the effect of (-)-DHMEQ on noncanonical NF-κB. Noncanonical NF-κB is constitutively activated in adult T-cell leukemia (ATL) cells. As a result, (-)-DHMEQ inhibited DNA binding and reduced nuclear accumulation of noncanonical NF-κB. Interestingly, I also found that (-)-DHMEQ induced instability of noncanonical NF-κB in ATL cells. Next, I have prepared mutant RelB that can not bind to DNA. As a result, I found that DNA binding activity of noncanonical NF-κB is a crucial role for its intracellular localization and stability. NLS-inactivated mutant also became unstable. I also found that the structure of mutant with loss of DNA binding activity had lower affinity to importin-α.</p> <p>In the 3rd chapter, I have studied the structure-activity relationship of NF-κB inhibitor 9-methylstreptimidone using its analogs. As a result, I found that the specific unsaturated hydrophobic moiety of 9-methylstreptimidone is essential for its activity. A new candidate compound for anticancer agent was also found among the analogs. Moreover, I also found that DTCM-glutarimide, a 9-methylstreptimidone derivative, selectively inhibited long term LPS stimulation induced-NF-κB activation.</p> <p>In conclusion, these novel inhibitory mechanisms of NF-κB inhibitors would contribute to the progress of new therapy for auto-immune diseases and cancer.</p>		