

論文内容要旨

論文題目

ζ型ジアシルグリセロールキナーゼによる NF-κB 制御機構

責任講座：歯科口腔・形成外科学 講座
氏名： _____ 土谷 理恵子 _____

【内容要旨】 (1,200 字以内)

転写因子 nuclear factor-κB (NF-κB) は、免疫応答や炎症、細胞増殖、細胞生存、癌化等の制御において中心的な役割を担うことが知られている。NF-κB は、阻害タンパクファミリーの 1 つである IκB と複合体を形成し、不活性型として細胞質に係留されているが、細胞外の様々な刺激によって IκB がリン酸化・分解されると、抑制解除を受けた NF-κB は細胞の核に移行し標的遺伝子の転写を行う。一方、ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はジアシルグリセロール (DG) をリン酸化し、フォスファチジン酸 (PA) に変換する酵素である。DGK はこれら 2 つの脂質の細胞内レベルを調節することにより、様々な細胞内情報伝達系を制御する。近年、ζ型 DGK が生体免疫システムと炎症応答に関与することが報告されているが未だ不明な点が多い。本研究では、炎症応答において、DGKζ が NF-κB 経路に及ぼす影響について細胞レベルの検討を行った。

DGKζ をノックダウンした HeLa 細胞および DGKζ ノックアウト (KO) マウス由来のマウス胎児線維芽細胞 (MEF) を用いて、炎症性サイトカイン TNF-α および IL-1β の刺激による NF-κB p65 サブユニットの細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡で経時的に観察した。また、NF-κB 活性に関わるタンパク質の発現をウエスタンブロット法により解析し、NF-κB の転写活性をルシフェラーゼレポーター法により検討した。

DGKζ をノックダウンした HeLa 細胞および DGKζ KO MEF のいずれにおいても、コントロールと比較して p65 は迅速に細胞質から核内に移行し、核内での滞在時間も遷延することが判明した。また、DGKζ ノックダウン HeLa 細胞および DGKζ KO MEF では、p65 サブユニットを細胞質に係留する IκB の分解が促進し、その回復も遅れることが明らかとなった。この時、IκB および p65 のリン酸化を担う IκB kinase (IKK) の活性が上昇し、p65 の転写活性増強に関与すると考えられている Ser 536 リン酸化の亢進も認められた。また、これらの結果に一致して NF-κB 転写活性も亢進し、NF-κB の標的遺伝子の 1 つである TNF-α の mRNA レベルも上昇した。

以上より、炎症応答において DGKζ は NF-κB 経路に抑制的に働く可能性が示唆された。この経路において、DGKζ は IKKβ の上流に作用し、IκB のリン酸化・分解と p65 サブユニットの活性を調節することにより NF-κB の転写活性を抑制していると考えられた。今後、IKK 複合体上流カスケードにおける DGKζ の作用点を解明し、生体现象との関連を検討する予定である。

平成 26年 1月 22日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：土谷 理恵子

論文題目： ζ 型ジアシルグリセロールキナーゼによる NF- κ B 制御機構

審査委員：主審査委員 富田 善彦

副審査委員 上野 義之

副審査委員 後藤 薫

審査終了日：平成 ²⁶~~23~~年 1月 20日

【 論文審査結果要旨 】

転写因子 nuclear factor- κ B (NF- κ B) は、細胞増殖、細胞死、免疫応答や炎症等で、重要な役割を果たしている。NF- κ B は阻害タンパク I κ B と複合体を形成し、不活性型として細胞質に存在しているが、細胞外の様々な刺激によって I κ B がリン酸化・分解され NF- κ B が核に移行し、標的遺伝子の転写を行う。ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はジアシルグリセロールをリン酸化し、フォスファチジン酸に変換する酵素であるが、DGK はこの機序により、細胞内情報伝達系を制御している。近年、 ζ 型 DGK が生体免疫システムと炎症応答に関与することが報告されているが未だ不明な点が多い。本研究は、炎症応答において、DGK ζ が NF- κ B 経路に及ぼす影響について検討したものである。

解析対象は DGK ζ ノックダウンした HeLa 細胞および DGK ζ ノックアウト (KO) マウス由来のマウス胎児線維芽細胞 (MEF) である。炎症性サイトカイン TNF- α および IL-1 β の刺激による NF- κ B p65 サブユニットの細胞内局在、NF- κ B 活性に関わるタンパク質の発現、NF- κ B の転写活性を検討した。

この結果、DGK ζ をノックダウンした HeLa 細胞および DGK ζ KO MEF のいずれにおいても、コントロールと比較して p65 は迅速に細胞質から核内に移行し、核内での滞在時間も遷延していた。また、これらの細胞では、I κ B の分解が促進し、その回復も遅れることが明らかとなった。さらに、I κ B kinase の活性の上昇と Ser 536 リン酸化の亢進も認められ、NF- κ B 転写活性も亢進していた。

以上より、少なくとも TNF- α および IL-1 β を介する免疫応答 (炎症反応) において DGK ζ は抑制的に働く可能性が示唆された。もとより NF- κ B の作用は多岐にわたっているため、細胞の種類の違いや、種差、さらに in vivo モデルでのさらなる探求が望まれるが、免疫応答における NF- κ B 系の反応について DGK ζ が抑制的に働くことを示したのは医学的に重要な知見と考えられ、学位授与に値すると判定した。

(1, 200字以内)