

氏 名	たけ うち じゅん こ 武 内 順 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2259 号
学位授与の日付	平 成 12 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 学 専 攻
学位論文題目	Thioredoxin Inhibits Tumor Necrosis Factor - or Interleukin - 1 - induced NF- κ B Activation at the Level Upstream of NF- κ B-inducing kinase. (チオレドキシンはTNFあるいはIL-1が誘導するNF- κ Bの活性化をNIKの上流の段階で阻害する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 内 山 卓 教 授 坂 口 志 文 教 授 福 田 和 彦

論 文 内 容 の 要 旨

近年、活性酸素種が生理活性物質として挙動し、サイトカインなどによる細胞内情報伝達に必須の役割を果たすことが明らかにされている。ヒトチオレドキシン (TRX) は成人T細胞白血病由来細胞株の培養上清中から単離された蛋白質であるが、活性中心にシステイン残基を有し、その還元活性を通じて活性酸素種を消去すること、また酸化蛋白質の還元を通じて細胞機能を調節することが明らかになっている。これまで TRX が制御する転写因子は多数報告されているが、本研究では、炎症、免疫反応において多くの遺伝子発現調節に重要な働きをする nuclear factor- κ B (NF- κ B) の TRX による制御機構を分子生物学的手法を用い検討した。

ヒト胎児由来腎細胞株 HEK293 において、プラスミドの導入による野生 TRX の過剰発現は TNF- α や IL-1 β による NF- κ B 活性化を抑制したが、還元活性欠損型 TRX を発現させても NF- κ B の活性化は抑制されなかった。この結果から、TRX による NF- κ B 活性化の抑制には還元作用が必須であることが明らかになった。また抗酸化剤 N-acetyl-L-cysteine (NAC) の投与は野生型 TRX を発現させたのと同様に TNF- α や IL-1 β による NF- κ B 活性化を抑制した。

活性酸素種は炎症性サイトカインによる NF- κ B 活性化の過程で産生され、その産生は低分子量 GTP 結合蛋白 Rac1 を含む NADPH 酸化酵素複合体が担うと報告されている。そこで NADPH 酸化酵素阻害剤や Rac1 変異体を用いた実験結果から Rac1 を介する経路が NF- κ B 活性化には必須で、TRX の作用点はこの下流であることが示唆された。

この経路における TRX の標的分子を明らかにする目的で、TNF- α や IL-1 β 受容体から NF- κ B 活性化までに介在する情報伝達分子を用いた実験を行った。すなわち TRAF-2,-5,-6 による NF- κ B 活性化は NAC 処理や TRX で抑制されたが、それらより下流の NIK, IKK α , MEKK1 による活性化は抑制されなかった。この結果から、NIK より上流、すなわち TRAF 分子か、そのすぐ下流の段階で TRX が NF- κ B 活性化を抑制することが明らかになった。

最近、TRX と相互作用を持つ蛋白質として Apoptosis signal-regulating kinase (ASK1) が報告されている。ASK1 は TRX と結合して細胞質内に存在するが、TNF- α や IL-1 β などのサイトカインや物理化学的刺激により活性化され、下流の SAPK/JNK 経路や p38MAPK 経路を選択的に活性化するとされている。ASK1 の変異体を用いた実験結果より、NF- κ B 活性化には ASK1 は関与しないことが示され、TRX の NF- κ B の活性化の調節は MAPK 活性化の調節とは異なる機序によることが明らかになった。

以上、TRX による NF- κ B 活性化の制御機構について解析した。本研究の成果を基盤として、遺伝子発現機構における TRX の標的分子の同定など、さらなる解析が進み、酸化ストレスが関与する疾患の病態生理の解明とその治療法の開発につながることを期待される。

論文審査の結果の要旨

還元酵素であるチオレドキシン (TRX) が遺伝子発現機構に影響を及ぼすことは知られているが、その機序は明らかではない。本研究は TRX による遺伝子発現制御機構を解明することを目的とし、サイトカイン刺激による NF- κ B 活性化に対する TRX の効果を分子生物学的に検討した。

HEK293 細胞に野生型と還元活性欠損型の TRX を過剰発現させ、TNF や IL-1 によって惹起される NF- κ B 活性を比較した結果、TRX の還元作用が NF- κ B 活性化の抑制に重要であることが明らかになった。Rac1 の変異体を用いた実験では、TRX は NF- κ B 活性化を Rac1 の下流で抑制することがわかった。さらに NF- κ B 活性化経路に介在する種々の情報伝達分子を過剰発現させることにより NF- κ B を活性化し、TRX の効果を比較した結果、TRX は TRAF-2, -5, -6 より下流、NIK, IKK α , MEKK の上流で NF- κ B 活性化を抑制することが示された。しかし TNF や IL-1 による MAPK 活性化の経路に存在し、TRX と相互作用を持つ ASK1 の変異体を用いた実験では、ASK1 は TNF や IL-1 による NF- κ B 活性化に関与しないことが示された。

以上の研究は、TRX がサイトカインの情報伝達機構の調節に重要な役割を果たすことを示唆しており、酸化ストレスが関与する疾患の病態生理の解明に貢献し、その治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年3月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。