



炎症応答を制御する新たな分子を同定

研究成果のポイント

- ・ RNA 結合タンパク質として知られる Y14 の新しい作用機序としてシグナル伝達分子 RIP1/TRADD とのタンパク質間相互作用を発見した。
- ・ Y14 は TNF- α 誘導性 NF- κ B 転写活性化を介して IL-6 産生を正に制御する。
- ・ Y14 は TNF- α 刺激による I κ B α のリン酸化/分解, NF- κ B/p65 の核移行を正に制御する。
- ・ Y14 は TNF- α /NF- κ B シグナル伝達制御因子のうち, RIP1 及び TRADD と会合し, 三者複合体を形成することにより NF- κ B 転写活性化を亢進する。
- ・ Y14 はがんや自己免疫疾患の新規標的分子としての可能性が期待できる。

研究成果の概要

生体は病原体や毒素の侵入により、炎症応答が惹起されます。炎症応答は、血管透過性の亢進や、白血球の遊走、血漿などの防御因子による血液凝固系の促進などを演出し、全身への病原体や毒素の拡散を防ぎます。このような炎症応答は生体防御の一翼を担う一方、過剰で持続的な炎症応答は自己組織の傷害をもたらす、がんや自己免疫疾患の発症へとつながります。

今回、私たちは炎症応答を担う重要な炎症性サイトカイン TNF- α による炎症応答を調節する分子として、RNA 結合タンパク質として知られている「Y14」を同定しました。Y14 は TNF- α シグナル伝達因子 RIP1, TRADD と相互作用し、両者の結合を増強することで、その下流の炎症関連の転写因子 NF- κ B^{*1} の活性化を亢進する、新たな NF- κ B 制御因子であることがわかりました。Y14 タンパク質を分子標的としたがんや自己免疫疾患の新しい薬の開発が期待できます。

本研究は免疫分野で権威ある雑誌 The Journal of Immunology の advance online publication で 7 月 1 日に公表されました。

論文発表の概要

研究論文名 : Y14 positively regulates TNF- α -induced NF- κ B transcriptional activity via interacting RIP1 and TRADD beyond an exon-junction complex protein (Y14 は RIP1 と TRADD と相互作用することにより TNF- α 誘導性 NF- κ B 活性化を正に制御する)

著者 : 氏名 (所属) Sumihito Togi, Kaname Shiga, Ryuta Muromoto, Masaya Kato, Yuki Souma, Yuichi Sekine, Shigeyuki Kon, (Hokkaido University), Kenji Oritani (Osaka University School of Medicine), Tadashi Matsuda (Hokkaido University)

公表雑誌 : The Journal of Immunology (<http://www.jimmunol.org/>)

公表日 : 米国東部時間 2013 年 7 月 1 日 (火) (advance online publication に公表)

研究成果の概要

(背景)

炎症応答を担う重要な分子群として TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカインが知られています。また、様々な炎症応答には転写因子 NF- κ B が重要な役割を果たしていることも知られています。TNF- α などの炎症性サイトカインによって細胞が刺激を受けると、不活性型の NF- κ B は活性化されて、その転写因子としての機能を獲得し、IL-6 を始めとする標的遺伝子(炎症応答や免疫応答に関与する遺伝子)の転写を活性化することで炎症反応を誘導します。

TNF- α のシグナル伝達経路においては、TNF- α が細胞表面の受容体に結合すると、受容体に結合している TRADD (TNF receptor-associated death domain protein) や RIP1 (Receptor-interacting protein 1) を介して、下流の IKK (I κ B kinase) が活性化されます。IKK は I κ B α タンパク質をリン酸化し、その後 I κ B α はユビキチン/プロテアソーム系による分解を受けます。I κ B α と解離することで細胞質に局在していた NF- κ B は核内に移行し、標的遺伝子配列に結合して転写を誘導します。NF- κ B の標的遺伝子には炎症性サイトカイン IL-6 や抗アポトーシス遺伝子などが含まれており、炎症反応や細胞増殖、アポトーシスなど数多くの生理現象に関与しています。NF- κ B の異常な活性化は関節リウマチなどの炎症性疾患の原因となり、また悪性腫瘍の多くでも NF- κ B の恒常的活性化が認められています。そのため NF- κ B 活性化制御機構の解明は TNF- α および NF- κ B の異常な活性化によって引き起こされるがんや自己免疫疾患の治療薬開発に向けて、重要な手掛かりになると考えられます。

Y14 は特異的に mRNA と結合し、mRNA のスプライシング^{*2}、核輸送、分解機構に深く関与していることが知られていますが(図 1)、炎症性サイトカインのシグナル伝達系における Y14 の機能は不明でした。以前に私たちは RNA 結合タンパク質である Y14 (RNA binding motif protein 8A, RBM8A) が STAT3 と結合することで IL-6/STAT3 シグナルを正に制御していることを報告しました。(BBRC, 372: 475-479, 2008, BBRC, 382: 63-68, 2009) 近年、STAT3 がその活性化により NF- κ B 活性化を亢進する分子機構が明らかにされたことから、STAT3 活性化を制御する Y14 は NF- κ B の活性化制御においても役割を担っている可能性が考えられ、本研究では TNF- α /NF- κ B シグナル伝達において Y14 がどのように働くかを検討しました。

(実験手法)

ヒト子宮頸癌細胞株 HeLa 細胞を TNF- α 刺激をすると TNF- α / NF- κ B が活性化し、IL-6 が産生されます。その際の Y14 の関与を調べるため、siRNA により内在性 Y14 発現をノックダウン^{*3}させた細胞を用いて、NF- κ B の転写活性への影響ならびに IL-6 産生への影響をルシフェラーゼアッセイ、Real-time PCR, ELISA 法により検討しました。同様に、Y14 ノックダウンによる TNF- α /NF- κ B 活性化につながる I κ B α のリン酸化/分解、NF- κ B/p65 の核移行への影響をウエスタンブロット法や蛍光顕微鏡により観察しました。また、Y14 と TNF- α /NF- κ B シグナル伝達制御因子群との結合を免疫沈降法により観察しました。

(研究成果)

ヒト子宮頸癌細胞株 HeLa 細胞を用いて内在性 Y14 発現をノックダウンさせると TNF- α 誘導性 NF- κ B 転写活性化を介した IL-6 遺伝子発現や IL-6 タンパク質産生が低下しました。また、Y14 ノックダウンにより、TNF- α 刺激による I κ B α のリン酸化/分解、NF- κ B/p65 の核移行が抑制されました。さらに、Y14 は TNF- α /NF- κ B シグナル伝達制御因子のうち、RIP1 及び TRADD と特異的に会合し、三者複合体を形成することにより NF- κ B 転写活性化を亢進します。以上の結果から、Y14 は TNF- α シグナル伝達因子 RIP1, TRADD と相互作用し、その下流の NF- κ B の転写活性を亢進する、新たな NF- κ B 制御因子で

あることが示されました。(図2)

(今後への期待)

がんや自己免疫疾患の患者さんのための新しい薬の開発を行う際に、Y14 タンパク質は重要な標的分子となり得ると考えられます。

お問い合わせ先

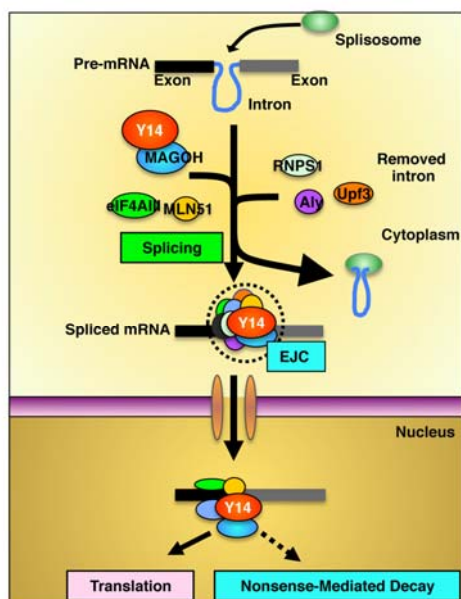
所属・職・氏名：北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつだ ただし)

TEL: 011-706-3243 FAX: 011-706-4990 E-mail: tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp

ホームページ: <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

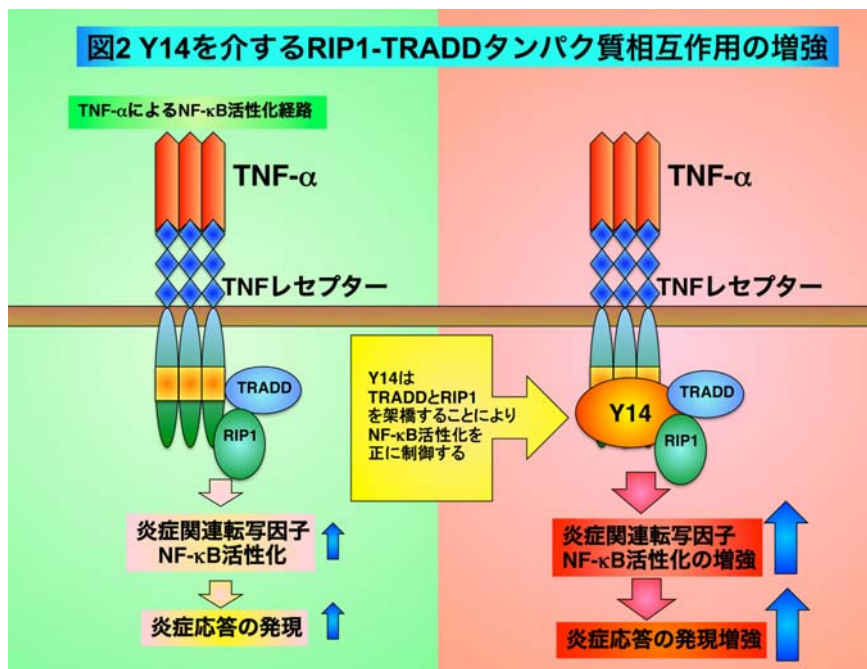
【参考図】

図1 これまでのY14ストーリー



Y14は特異的にmRNAと結合し、mRNAのスプライシング、核輸送、分解機構に深く関与していることが知られています。

図2 Y14を介するRIP1-TRADDタンパク質相互作用の増強



【用語説明】

1. 転写因子 NF- κ B :

B 細胞で選択的に発現する免疫グロブリンの κ 軽鎖のエンハンサーに結合する転写因子(核内因子 κ B, nuclear factor- κ B)として同定されましたが、後にほとんど全ての細胞に発現していることが明らかとなり、さらに高等生物に限らずショウジョウバエやウニなどの無脊椎動物の細胞においても NF- κ B は発現しています。特に哺乳動物において NF- κ B ファミリー (Rel ファミリーとも呼ばれる) に属する分子は 5 種類が知られています。NF- κ B は免疫応答や細胞の生存など多彩な生命現象に関与しており、炎症・自己免疫疾患、がんなどでその活性が亢進していることから、種々の疾患治療の標的分子としても注目されています。

2. スプライシング:

タンパク質合成において、真核生物の遺伝子の多くは、タンパク質のアミノ酸配列に対応する DNA 塩基配列部分 (エキソン) が、対応しない部分 (イントロン) によって分断されています。そのため、転写で合成された未完成の RNA (mRNA 前駆体, 一次転写産物) からイントロンが切り取られ、エキソン同士が結合して成熟 mRNA ができます。この過程をスプライシングと呼びます。

3. ノックダウン:

ここでは siRNA を用いた遺伝子ノックダウンを指します。siRNA (small interfering RNA) とは 21-23 塩基対から成る低分子二本鎖 RNA で、RNA 干渉 (RNAi) と呼ばれる現象に関与しています。RNA 干渉においては mRNA の破壊によって配列特異的に遺伝子の発現が抑制されます。そのため、特定の遺伝子の転写量を減少させ、遺伝子の機能を大きく減弱させることができます。現在、この siRNA を用いた RNA 干渉は遺伝子をノックダウンする方法として生物学および医薬分野の基礎研究に応用されているとともに、臨床への応用も期待されています。