



Title	The IκB Kinase Complex Regulates the Stability of Cytokine-Encoding mRNA Induced by TLR-IL-1R by Controlling Degradation of Regnase-1
Author(s)	岩崎, 秀典
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59704
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	岩 崎 秀 典
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 25600 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 8 月 21 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	The I κ B Kinase Complex Regulates the Stability of Cytokine-Encoding mRNA Induced by TLR-IL-1R by Controlling Degradation of Regnase-1 (Regnase-1 の分解を介した I κ B kinase 複合体の TLR/IL-1R 誘導型サイトカイン mRNA 安定化制御機構の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 審 良 静 男
	(副査) 教 授 荒 澄 尚 教 授 竹 田 潔

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的(Purpose)〕

自然免疫反応では、病原体による感染が起こると、病原体を認識するレセプターであるToll like receptor (TLR) を介してシグナル伝達を開始する。そして、IKK複合体がI κ B α をリン酸化し、NF- κ Bが核内に移行することで、IL-6のような炎症性サイトカインの転写を誘導し、急速に炎症反応を惹起することが知られている。一方で、転写活性化によるmRNAのコントロールに加えて、mRNAはその分解速度によってもコントロールされている。これまで、当研究室において、TLR刺激に対し発現誘導され、IL-6 mRNAを不安定化する新規RNA分解酵素regnase-1を同定し、regnase-1欠損マウスは自発的な自己免疫炎症状性疾患を発症することを報告している。このことは、regnase-1を介したmRNAの発現コントロールが恒常性の維持に必要不可欠であることを示している。そこで、本研究においてTLR刺激に対するregnase-1タンパク質分解を介したmRNAの転写後制御機構を明らかにするために解析を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

Regnase-1のタンパク質レベルにおける発現を検討したところ、恒常的に発現しているregnase-1はIL-1 receptor (IL-1R) /TLR刺激によって刺激後数分で消失し、120分以内に再び発現することが明らかとなった。一方、TNFR刺激では消失しなかった。ノックアウト細胞

による解析の結果, regnase-1は, MyD88, IRAK4, IRAK1/2の細胞内シグナル伝達タンパク質を介して消失していることが明らかとなった。IL-1R/TLR刺激に対してregnase-1は, IKK複合体によってリン酸化され, ユビキチン-プロテアソーム系により分解された。これまで当研究室において, regnase-1欠損マクロファージにおいて, IL-6 mRNAは安定化していることを報告している。そこで, 刺激後のIKKを介するregnase-1のリン酸化と分解が, IL-6 mRNAの安定化をコントロールしているかどうかを検証した。Regnase-1ノックアウト細胞に野生型もしくはIKK複合体によるリン酸化部位変異体(S435A&S439A)を強制発現させ, 刺激後のIL-6 mRNA発現を検討した結果, リン酸化部位変異体は, 野生型よりも強くIL-6 mRNA発現を抑制した。さらに, IKK複合体は, IL-1R/TLR刺激に対し, regnase-1分解を介したmRNA安定化に関与していた。Regnase-1は分解後, 120分ほどで再度発現する。刺激後のregnase-1の消失時は, 消失していない時と比較してregnase-1のmRNAの半減期が延長している。この結果よりregnase-1 mRNAはregnase-1のターゲットになっていると仮説をたてた。これを検証するためにregnase-1の3' UTRを持つ β -globinをTet offシステムに組み込み, regnase-1と共に細胞内に発現させてmRNAの安定性を検討する実験系を構築した。その結果, regnase-1は自身のmRNAを不安定化していることが示された。さらにregnase-1は, 自身のmRNAの3' 非翻訳領域(UTR)のステムループ構造をターゲットにして分解していることが示された。

[総括(Conclusion)]

IL-1RやTLR刺激に対しMyD88, IRAK1/2を介してIKK複合体がregnase-1のDSGxxSモチーフをリノ酸化し、ユビキチン-プロテアソーム分解経路によりregnase-1が分解されていた。IKK複合体は転写制御のみではなく、IL-6 mRNAの安定性をコントロールしていることが明らかになった。また、regnase-1は、自身のmRNAの3' UTRにあるステムループ構造を認識して負に制御していることを発見し、刺激後の負のフィードバックにregnase-1が関与していることが示唆された。本研究によりIKK複合体が転写の活性化を担うI κ B α だけでなく、IL-6のmRNA発現のブレーキ役のregnase-1をリノ酸化して分解するという新しい転写後制御機構を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

Toll-like receptor (TLR)は、病原体の感染を認識し、I κ B kinase (IKK)複合体の活性化によるI κ B α リノ酸化を介してNF- κ Bの活性化を誘導し、炎症性サイトカインの遺伝子発現を誘導することで炎症応答を惹起する。近年、RNaseであるRegnase-1がIL-6など炎症性サイトカインの遺伝子mRNAの不安定化を制御して炎症性疾患発症を抑制していることが明らかになっている。しかしながら、炎症期における転写後制御の関与については不明であった。

申請者は、IL-1RやTLR刺激に対しIKK複合体がRegnase-1をリノ酸化し、ユビキチン-プロテアソーム分解経路によりRegnase-1を分解することで、IL-6 mRNAが安定化し、迅速なIL-6産生につながる新しいメカニズムを解明した。さらに、Regnase-1が自身のmRNAを負に制御していることを発見し、負のフィードバックへの関与を示唆した。これより、申請者は、IKK複合体が転写の活性化を担うI κ B α だけでなく、IL-6のmRNA発現のブレーキ役のregnase-1をリノ酸化して分解するという新しい転写後制御機構を発見した。これらの成果は自然免疫学、医学領域の疾病制御学研究の発展に大いに貢献するものであり本論文の審査の結果及び学力試験の結果から学位の授与に値すると考えられる。