



Title	I κ B α is required for full transcriptional induction of some NF κ B-regulated genes in response to TNF in MCF-7 cells
Author(s)	安藤, 美波
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/87838
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (安 藤 美 波)

論文題名

I κ B α is required for full transcriptional induction of some NF κ B-regulated genes in response to TNF in MCF-7 cells
(TNF刺激後のMCF-7細胞においてI κ B α はNF κ Bの標的遺伝子の完全な発現誘導に必要である)

論文内容の要旨

Nuclear Factor- κ B (NF κ B) シグナル経路は幅広い種類の細胞外と細胞内シグナルを伝達して、多様な細胞応答を制御する。この過程で、NF κ Bの核内動態は3つのI κ B蛋白質(I κ B α 、I κ B β とI κ B ϵ)による制御の絶妙なバランスによって制御されている。腫瘍壊死因子(TNF)刺激後、I κ B α 、I κ B β とI κ B ϵ はリン酸化された後に分解され、これによってNF κ Bは核内に移行して転写制御を行うが、I κ B α はNF κ B活性の持続時間を制限し、応答する遺伝子の発現を抑制する負のフィードバック因子としてよく知られる。しかし、I κ B α を介したNF κ Bの急速な活性化が標的遺伝子発現においてどのような生物学的な意義があるかは解明されていない。そこで、本研究では、ヒト乳癌細胞(MCF-7)におけるTNFに誘導されるNF κ Bの標的遺伝子発現誘導におけるI κ B α の生物学的な役割について調べた。

そこで、I κ B α 存在下とNF κ Bをノックダウンした場合の二つの条件でNF κ Bの標的遺伝子の発現誘導の変化量を比較すると、一部の遺伝子ではI κ B α をノックダウンした場合の方が、I κ B α 存在下よりも最大値が減少していた。そこで、数理モデルを用いてこれらの遺伝子を制御する転写制御メカニズムを調べた。その結果、I κ B α をノックダウンした細胞において見られた、一部のNF κ Bの標的遺伝子の発現誘導の変化量の減少はインコヒーレントフィードフォワードループ(IFFL)モデルによって説明できることがわかった。さらに、I κ B α のノックダウンによって負のフィードバック制御が無くなり、NF κ Bは持続的な活性を示したにも関わらず、一部のNF κ B標的遺伝子の発現誘導のパターンは一過性であった。このことは、クロマチンの開閉の転写制御を表した循環型のクロマチンの状態遷移モデルによって遺伝子発現誘導が制御されていることを示唆した。*JUNB*や*KLF10*のような炎症に関連する重要な転写因子をコードする遺伝子の発現誘導のパターンは、このIFFLモデルと循環型のクロマチンの状態遷移モデルの両方を組み合わせたモデルによって最も正確に再現された。これらの結果から、炎症性の遺伝子が過剰に発現誘導されないようにブレーキを掛ける転写制御様式があることが明らかになった。そして、I κ B α にはNF κ Bに対する負の制御因子としての役割だけでなく、刺激応答後にNF κ Bに制御される炎症性の標的遺伝子の発現誘導の変化量を高くする役割があることが明らかになった。これらの知見は、乳がん細胞におけるTNFに対する炎症性反応において、I κ B α が複雑な役割を担っていることを示した。最後に、新型コロナウイルス感染症の後遺症に繋がる可能性があるNF κ Bの標的遺伝子の過剰な発現とNF κ Bの結合部位のアクセシビリティの増加が回復期にある重症の患者で見られた。

本研究の生物学的な意義は、I κ B α にはNF κ Bに対する負の制御因子としての役割だけでなく、刺激応答後にNF κ Bに制御される炎症性の標的遺伝子の発現誘導を可能にする役割があることが明らかになったことである。また、NF κ Bシグナル経路における炎症性の遺伝子の過剰発現を抑制するための遺伝子発現制御メカニズムがあることも明らかになった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (安 藤 美 波)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 教 授	岡田 眞里子
	副 査 教 授	上田 昌宏
	副 査 准教授	長尾 恒治

論文審査の結果の要旨

安藤美波氏の学位論文（和文）「TNF 刺激後の MCF-7 細胞において I κ B α は NF κ B の標的遺伝子の完全な発現誘導に必要である」（英文）「I κ B α is required for full transcriptional induction of some NF κ B-regulated genes in response to TNF in MCF-7 cells」に対する審査を行った。

本研究において、安藤氏は腫瘍壊死因子（TNF）刺激に対する MCF-7 ヒト乳がん細胞内の NF κ B 転写因子の活性を次世代シーケンスデータの解析から定量的に推定し、NF κ B の負の制御因子として知られる I κ B α のノックダウンによる変化を情報学的に解析することにより、NF κ B の転写制御に対する I κ B α の役割を明らかにすることを試みた。NF κ B 活性の時間変化に伴う遺伝子発現とクロマチン構造の変化を網羅的に解析し、クラスター解析と統計検定を駆使することで NF κ B による遺伝子発現誘導パターンの様式に 3 種あることを見出した。こうした解析から、I κ B α は NF κ B に対して負の制御因子として働くだけでなく、I κ B α があることで NF κ B に制御される標的遺伝子の発現誘導を一過性でかつ高くする役割があることを明らかにしており、I κ B α がこれまでに知られているよりも複雑な役割を担っていることを示した。また、I κ B α の抑制機能がなくなることによって NF κ B 活性が持続的になっても、遺伝子発現は一過性応答を維持することを見出し、炎症性の遺伝子の過剰発現を抑制する別の遺伝子発現制御機構が働いていることを見出した。このメカニズムを明らかにするため、NF κ B による転写制御の数理モデル構築に取り組み、こうした複雑な発現誘導パターンの背後に働く反応回路の構造を推定することにも成功した。特に、炎症性の遺伝子の過剰発現を抑制する仕組みとして、NF κ B の下流にインコヒーレントフィードフォワードループ（IFFL）を仮定することで過剰な遺伝子発現の抑制を説明することに成功している。これら一連の発見は新規性も高く、NF κ B シグナル経路による転写調節の機構の理解を大きく進めるものである。加えて、安藤氏は開発した一連のバイオインフォマティクス解析の手法を新型コロナウイルス感染症に関係する遺伝子発現データにも適用し、NF κ B による転写制御について有用な知見を得ている。博士論文の内容の量も質も十分に高い水準にあり、このことから、本論文は博士（理学）の学位を授与するに相応しいと認められた。

受理された学術雑誌掲載論文の情報

Ando M, Magi S, Seki M, Suzuki Y, Kasukawa T, Lefaudeux D, Hoffmann A, Okada M. (2021) I κ B α is required for full transcriptional induction of some NF κ B-regulated genes in response to TNF in MCF-7 cells. *NPJ Syst Biol* 7, 42. doi: 10.1038/s41540-021-00204-7. PMID: 34853340