

論文審査の結果の要旨

氏名 新澤 未穂

NIK は多様なシグナル伝達経路を制御し、自己免疫応答や骨代謝、腫瘍の悪性化など多岐に渡る生理機能の維持に寄与している。したがって、NIK が関わる生理機能の同定や、NIK の活性化制御機構の解明は、様々な疾患の治療への応用が期待される。本研究では、NIK のこれまでに明らかにされていない生理機能と活性化制御分子機構の一端を解明した。本研究により得られた NIK に関する新たな知見を以下に要約する。

- (1) 遺伝的背景を C57BL/6 系統から BALB/cA 系統に変えた *aly/aly* マウスは、髄外造血に起因する顕著な脾臓の肥大化を呈した。
- (2) セリン・スレオニン ホスファターゼ カルシニューリンの触媒サブユニット Ppp3ca が NIK と結合する。
- (3) NIK と Ppp3ca は、NIK の Kinase domain と C 末端領域、及び Ppp3ca の Catalytic domain を介して相互作用する。
- (4) Ppp3ca のアイソフォームである Ppp3cb もまた、NIK の Kinase domain と C 末端領域に結合する。
- (5) LT β R シグナルにおいて、Ppp3ca と Ppp3cb は、NIK 依存的に誘導される転写因子 Spi-B の発現を抑制する。
- (6) LT β R シグナルにおいて、Ppp3ca と Ppp3cb は、古典的経路と非古典的経路の活性化を制御する。
- (7) 細胞内において、Ppp3ca と Ppp3cb は NIK の分解を誘導する TRAF3 と結合する。

本研究では、初めに *aly/aly* マウスを用いて NIK の新規生理機能の同定を行った。マウスの遺伝的背景の違いが表現型に影響することが報告されていたため、C57BL/6 系統から BALB/cA 系統に戻し交配した *aly/aly* マウスの表現型を解析した。その結果、BALB/cA 系統の *aly/aly* マウスでは、*aly/+* マウスに比べ、著しい脾臓の肥大化が認められた。さらに、BALB/cA 系統の *aly/aly* マウスにおける脾臓の肥大化が髄外造血に起因することを明らかにした。この結果は、NIK が脾臓における髄外造血を制御に寄与するという新しい生理機能の存在を示唆する。

さらに本研究では、セリン・スレオニンホスファターゼであるカルシニューリンの触媒サブユニット Ppp3ca と、そのアイソフォーム Ppp3cb が NIK と結合することを明らかにした。Ppp3ca と Ppp3cb は、NIK がリン酸化修飾を受ける Kinase domain と C 末端領域に結合することが明らかになった。したがって、Ppp3ca と Ppp3cb は脱リン酸化に

よって NIK の活性化を制御している可能性が示唆された。

NIK を活性化する LT β R シグナルにおける Ppp3ca と Ppp3cb の機能を、siRNA を用いた発現抑制実験により解析した。Ppp3ca と Ppp3cb の発現を抑制した細胞では、LT β R 刺激によって誘導される NIK 依存的な標的遺伝子 Spi-B の発現の増加が見られた。さらに、Ppp3ca と Ppp3cb の発現抑制により NIK の蓄積量の増加が見られた。NIK 下流のシグナルを解析したところ、核内における p65 の発現が増加し、古典的経路の活性化が見られた。核内の p52 や RelB の発現量も増加していたことから、非古典的経路の活性化も示唆された。NIK は、古典的経路と非古典的経路の 2 つの経路を活性化することが報告されている。したがって、本研究の結果から Ppp3ca と Ppp3cb は NIK の活性化を抑制することで、下流のシグナルの活性化を調節していることが示唆された。また Ppp3ca と Ppp3cb をそれぞれ単独で発現抑制したときよりも、同時に抑制した時の方が、Spi-B の発現や、シグナルの増強が顕著だった。この結果は、Ppp3ca と Ppp3b は同様の機能を持つことを示唆する。

本研究で得られた結果は、ホスファターゼである Ppp3ca と Ppp3cb が NIK の活性化を制御するという非常に新しい分子機構の存在を提唱する。これまでに多くの研究によって、NIK 発現量の制御不良と腫瘍の悪性化や炎症性疾患との関連性が報告されている。したがって本研究における新たな知見は、そのような疾患の治療法を見出す契機となることが期待される。

なお、本研究は丸山祐哉、秦俊文、秋山伸子、宮内真紀、箭内洋見、高見正道、井上純一郎、秋山泰身との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。

以上 1878 字