

学位授与番号	甲第 1877 号
学位授与年月日	平成 19 年 6 月 30 日
氏 名	松本 則彦
学位論文題目	Caspase-8-and JNK-dependent AP-1 activation is required for Fas ligand-induced IL-8 production (Fas リガンド刺激による IL-8 の産生にはカスパーゼ 8 と JNK を介した AP-1 の活性化が必要である)
論文審査委員	主 査 教 授 佐藤 博 副 査 教 授 向田 直史 山本 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

Fas リガンド(FasL)は受容体 Fas に結合することで、様々な細胞にアポトーシスを誘導するデス因子である。Fas-FasL が機能なくなると自己免疫疾患を発症する一方、FasL の機能が亢進すると劇症肝炎のような炎症性疾患を発症することが知られている。我々はこれまでに FasL が白血球遊走因子 IL-8 の産生を誘導することを報告してきた。そして、FasL 刺激による IL-8 プロモーターの活性化には、このプロモーター領域内の NF- κ B 結合配列と AP-1 結合配列が共に重要であることを明らかにした。しかし、FasL 誘導 IL-8 産生における AP-1 の活性化機構には不明な点が多い。そこで本研究では、HEK293 細胞を用い、その分子機構を解明することを目指した。得られた結果は次のように要約される。

1. 細胞に AP-1 の構成因子である c-Jun のドミナントネガティブ変異体を導入すると、FasL による AP-1 の活性化を抑制したが、NF- κ B の活性化は抑制しなかった。逆に、NF- κ B 阻害因子 I κ B α の超安定型変異体を導入すると、FasL による NF- κ B の活性化は抑制したが AP-1 の活性化は抑制しなかった。
2. FasL による AP-1 の活性化は、Fas のデスドメイン (DD) の各種欠損変異体、または FADD あるいはカスパーゼ 8 に対する siRNA を細胞に導入することで有意に抑制された。
3. FasL による AP-1 の活性化は汎カスパーゼおよびカスパーゼ 8 阻害剤により抑制されたが、カスパーゼ 3、カスパーゼ 1 およびグランザイム B の阻害剤では抑制されなかった。
4. HEK293 細胞由来カスパーゼ 8 欠損細胞株 (293K) では FasL 刺激による AP-1 の活性化は全く誘導されなかった。293K 細胞に野生型カスパーゼ 8 遺伝子を導入すると、FasL による AP-1 の活性化が回復したが、カスパーゼ 8 の活性中心変異体を導入しても回復しなかった。
5. FasL 刺激による mitogen-activated protein kinase (MAPK) の活性化(リン酸化)をウエスタンブロット法で調べたところ、JNK および ERK のリン酸化がみられたが p38 のリン酸化はみられなかった。JNK 阻害剤により FasL 刺激による AP-1 の活性化および IL-8 の産生が抑制されたが、ERK リン酸化酵素である MEK の阻害剤および p38 阻害剤はこれらの応答を抑制しなかった。
6. FasL 刺激による JNK リン酸化は汎カスパーゼおよびカスパーゼ 8 阻害剤 Z-VAD により抑制され、カスパーゼ 1 阻害剤では抑制されなかった。

以上により、FasL 刺激による IL-8 の産生機構には AP-1 の活性化が寄与し、その応答は NF- κ B の活性化とは独立した応答であることが示された。また、FasL による AP-1 の活性化には Fas の DD、FADD、カスパーゼ 8、JNK が関与し、カスパーゼ 8 の酵素活性が下流での JNK のリン酸化に必要であることが示された。これらの知見は FasL による炎症誘導作用の分子機構の解明に寄与し、さらには FasL が関わる炎症性疾患の治療法の開発に有用である可能性があり、学位に値する研究と評価された。