

論文内容要約

論文題目

新規 DGK ゼータ結合蛋白 DEAD-box protein 5 (DDX5) による NF- κ B 制御機構の解析

責任講座： 整形外科学 講座
氏名： 田中 賢

【要約】

背景

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は、イノシトールリン脂質代謝系で産生されるジアシルグリセロールの代謝を介して細胞内情報伝達機構の制御に関与する。近年、ゼータ型 DGK (DGK ζ) の機能解析を目的に質量分析法を用いて結合蛋白の検索が行われているが、本研究では、新規 DGK ζ 結合蛋白として DEAD-box protein 5 (DDX5) を同定した。DDX5 は当初、RNA ヘリカーゼ活性を持つ分子として単離され、種々の転写因子に対する調節因子としての役割が報告されているが、未だ不明な点が多い。また最近の研究により DGK ζ は、炎症応答に主要な役割を果たす NF- κ B 経路を抑制的に制御することが明らかにされたことを踏まえ、本研究では DDX5 による NF- κ B 制御機構について解析を行った。

方法

HeLa 細胞および HEK293 細胞における DDX5 の細胞内局在や DDX5 ノックダウン細胞における NF- κ B p65 サブユニットの細胞内動態を形態学的に解析した。また I κ B と p65 サブユニットの発現およびリン酸化をウェスタンブロット法を用いて、そして NF- κ B 転写活性をルシフェラーゼアッセイ法を用いて検討した。

結果

HeLa 細胞において、内在性 DDX5 は DGK ζ とともに主として核内に認められたが、その他細胞質にも検出された。TNF- α 刺激による p65 サブユニットの経時的な細胞内動態は、DDX5 ノックダウン細胞とコントロール細胞において、大きな変化を示さなかった。TNF- α 刺激による I κ B の発現にも、大きな変化は認められなかった。これらの結果から、DDX5 の発現減少は I κ B および p65 サブユニットの細胞内発現局在動態に影響を及ぼさないと考えられた。次に DDX5 ノックダウン細胞における p65 サブユニットのリン酸化レベルを解析すると、Ser 311 において大きく減少することが明らかとなった。DDX5 ノックダウン細胞の NF- κ B 転写活性は、コントロール細胞に比べて約 50%減少した。この結果、DDX5 の発現低下によって、p65 サブユニットのリン酸化を介する転写活性が抑制されることが示唆された。また TNF- α 刺激下での蛋白間結合を解析すると、p65 サブユニット、DGK ζ 、DDX5 の間に顕著な変化は認められなかった。

考察

これまでの報告により、TNF- α 刺激による NF- κ B 活性化機構において DGK ζ ノックダウンは、p65 サブユニットの核内移行とリン酸化を促進することにより、NF- κ B 転写活性を亢進させることが示されている。本研究では、DDX5 ノックダウンが p65 サブユニットのリン酸化を抑制することにより、NF- κ B 転写活性を低下させることが明らかになった。すなわち、DGK ζ と DDX5 は NF- κ B 経路に対して相反する作用を及ぼす可能性が示唆される。