

論文審査結果報告書

論文提出者氏名 谷口 礼

学位論文題目：RelB-induced expression of Cot, a MAP3K, rescues RANKL-induced osteoclastogenesis in alymphoplasia mice by promoting NF- κ B2 processing by IKK α .

審査委員（主査）教授 竹内 弘 印

（副査）教授 豊島 邦昭 印

（副査）准教授 有吉 渉 印

論文審査結果の要旨

破骨細胞分化には、骨芽細胞が産生する receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) による破骨細胞前駆細胞 (Osteoclast precursors: OCP) の nuclear factor- κ B (NF- κ B) の活性化が必須である。NF- κ B の活性化機構は主にインターロイキン1や Tumor necrosis factor α などの炎症性サイトカインにより活性化される古典的経路と、CD40 リガンドやリンホトキシン β などのリンパ節形成に関わる因子によって活性化される非古典的経路に分けられる。NF- κ B 非古典的経路に重要な NIK 遺伝子の機能欠失型変異を有するリンパ形成不全 (*aly/aly*) マウスでは IKK α の活性化が起きないため、NF- κ B2 の p100 から p52 へのプロセシングが阻害されて破骨細胞形成が抑制される。一方、NF- κ B2 の前駆体 p100 と NF- κ B2 の活性型 p52 の存在しない NF- κ B2 遺伝子欠損 (NF- κ B2^{-/-}) マウスでは野生型 (WT) マウスと同程度の破骨細胞が存在することから p100 が破骨細胞形成を阻害することが考えられる。そこで本研究では NF- κ B2 とヘテロダイマーを形成し転写活性を調節する RelB の破骨細胞分化における役割について検討した。

aly/aly マウス由来の OCP では RANKL 刺激による RelB の核移行と破骨細胞形成が阻害されるが、RelB を過剰発現させると RANKL 刺激による p100 が p52 にプロセシングされ、破骨細胞形成の抑制も解除された。NF- κ B2^{-/-} マウス由来の OCP に p52 へのプロセシングをおこさない p100 の変異体 p100 Δ GRR を過剰発現させると破骨細胞形成が抑制され、この抑制は RelB を共発現しても解除されなかったことから、破骨細胞分化には NF- κ B2 のプロセシングが重要であることが判った。また、WT マウス由来の OCP に NIK によるリン酸化部位 176、180 番目のセリンをアラニンに置換した不活性型 IKK α (IKK α AA) を過剰発現させると破骨細胞形成が抑制されたが、この抑制は RelB を共発現させると解除されたことから、この RelB の作用は NIK による IKK α の活性化経路を介さないと考えられた。

次に谷口氏らはマイクロアレイを用いた網羅的解析から MAP3K ファミリー分子 *Cot* 遺伝子が RelB 依存的に発現が誘導されることを見出した。WT マウス由来の OCP では RANKL 刺激による *Cot* の発現上昇を認めたが、RelB^{-/-} マウス由来の OCP では *Cot* 発現が誘導されなかった。さらに shRNA を用いて *aly/aly* マウス由来 OCP の *Cot* の発現を抑制すると RelB を過剰発現させても破骨細胞形成は回復せず、RelB^{-/-} マウス由来の OCP に *Cot* を過剰発現させると RelB 非依存下でも破骨細胞形成の抑制が解除された。

また WT マウス由来の OCP に IKK α AA と *Cot* を共発現すると破骨細胞形成の抑制が解除されたが、IKK α AA の 23 番目のスレオニンをアラニンに置換し *Cot* からの活性化を受けない IKK α AAT23A と *Cot* を共発現すると破骨細胞形成の抑制が解除されなかった。さらに WT マウス、および *aly/aly* マウス由来の OCP に Akt の恒常的活性型である AktCA と RelB を共発現すると破骨細胞形成は促進されたが、同時に shRNA を用いて *Cot* の発現を抑制すると破骨細胞形成は抑制された。WT マウス、および *aly/aly* マウス由来の OCP に *Cot* を過剰発現させると破骨細胞形成は促進されたが更に Akt の機能欠失型である AktDN を共発現すると破骨細胞形成は抑制された。

以上の結果から、RelB は *Cot* の発現を誘導し、*Cot* は Akt と協調することで、NIK とは異なるメカニズムを介して IKK α を活性化し、破骨細胞の分化を誘導することが明らかとなった。本研究内容について申請者の谷口礼氏に対し、主査と2名の副査による試問を行い、実験手法や結果の解釈および当該分野における意義と今後の課題等について概ね適切な回答を得た。破骨細胞の分化に主要な役割を演ずる NF- κ B シグナルの新しい調節経路を見出した本研究結果は、NF- κ B シグナルの関与する骨代謝や免疫機能の調節機構の全容を理解し関連疾患の治療法開発にも寄与するところが多いことから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。

