

論文審査の結果の要旨

氏名：工 藤 圭 紘

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Nuclear localization status of propeptide interleukin (IL)-1 α in HeLa cells

(HeLa 細胞における propeptide IL-1 α の存在様式)

審査委員：(主査) 教授 鈴木直人

(副査) 教授 米原啓之

教授 浅野正岳

教授 川戸貴行

外傷や代謝障害などによりダメージを受けた細胞・組織は壊死に陥るが、この際、周囲組織には炎症が生じる。これは、非感染性炎症と呼ばれ、病原微生物の感染なしに生じる炎症であり、壊死した細胞から放出された因子により惹起されると考えられている。こうした物質は、alarmin と総称され、障害を受けた細胞が自らの置かれた危機的な状況を周囲に知らしめるという機能を担っている。従って、alarmin は平常状態においては細胞の中に存在し、壊死に際して細胞外に放出される。代表的な alarmin として、IL-33 や HMGB1 などがあるが、本研究においては IL-1 α に着目した。

IL-1 α は約 34 kDa の前駆体 (precursor IL-1 α ; pIL-1 α) として細胞質内で産生される。その後、Ca²⁺依存性セリンプロテアーゼであるカルパインや好中球などが産生する granzyme B (GzmB) などにより分子のほぼ中央部分を切断される。この結果、N 末端側の propeptide IL-1 α (ppIL-1 α) と C 末端側の mature IL-1 α (mIL-1 α) が産生される。mIL-1 α は、細胞外に分泌され、特異的レセプターである IL-1 receptor type I (IL-1R1) に結合し、IL-6 や IL-8 などの産生を促すことによって炎症カスケードを起動する。一方、ppIL-1 α および pIL-1 α は、nuclear localizing sequence (NLS) を有しており、主に核内に局在するとされている。本研究では、これら IL-1 α 3 分子種の細胞内局在や、その局在様式について検討することとした。

実験には、ヒト子宮癌由来培養線維芽細胞である HeLa 細胞を用いた。3 種類の IL-1 α 分子種の N 末端に green fluorescence protein (GFP) 配列を付加した発現プラスミドを構築し、これらを transfection することにより細胞内局在を検討した。核局在の確認は、ヒストン H2B に mCherry タグを付加した発現ベクターを用いた。また、酸化ストレス下でのそれぞれ 3 分子種の細胞外への分泌は、N 末端に HiBiT タグを付与した発現ベクターを用いて行った。エネルギー依存性の核輸送の可能性については、transfectant を氷上で反応させることにより観察した。

その結果、以下の結論を得た。

- 1.mIL-1 α は細胞質にびまん性に、pIL-1 α , ppIL-1 α は NLS 依存性に核に局在していた。
- 2.Transfectant における IL-1 α の細胞外放出を検討した結果、mIL-1 α のみならず、pIL-1 α および ppIL-1 α も恒常的に分泌されており、ppIL-1 α は非酸化ストレス下で放出が増強された。
- 3.pIL-1 α と ppIL-1 α は核質内に浮遊状態で局在していた。
- 4.pIL-1 および ppIL-1 の核移行はエネルギー依存性であった。

本研究の結果から、3 種類の IL-1 α 分子はすべて効率の差はあるものの、定常状態においても細胞外に放出されていることが明らかとなった。また、ppIL-1 α は、エネルギー依存性に核に集積するものの、その局在は染色体 DNA や核タンパク質と強固に結合しているわけではなく、比較的緩やかに核質中に浮遊している可能性が示唆された。

本研究は、IL-1 α 分子の alarmin としての性質について検討したものであり、歯科臨床における炎症動態の理解に寄与するものと考えられた。

よって、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 4 年 3 月 1 0 日