

インターロイキン1受容体を介するシグナル伝達機構の解析

Research Project

All

Project/Area Number

06770240

Research Category

Grant-in-Aid for Encouragement of Young Scientists (A)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

Immunology

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

久野 耕嗣 金沢大学, がん研究所, 助手 (40242565)

Project Period (FY)

1994

Project Status

Completed (Fiscal Year 1994)

Budget Amount *help

¥900,000 (Direct Cost: ¥900,000)

Fiscal Year 1994: ¥900,000 (Direct Cost: ¥900,000)

Keywords

IL-1 / TNF / シグナル伝達 / 酸性スフィンゴミエリナーゼ / セラミド / ニーマンピック病 / NFκB

Research Abstract

最近IL-1,TNF刺激によりスフィンゴミエリンの分解とセラミドの生成が促進されることが報告され、また異なるグループにより中性および酸性スフィンゴミエリナーゼのIL-1/TNFシグナル伝達への関与を示唆する報告がなされている。このうちSchutzeら(CELL,71,765,1992)はTNFによるNFκBの活性化に、PC-PLCによるDAGの生成と酸性スフィンゴミエリナーゼの活性化が重要であると報告している。本研究では、酸性スフィンゴミエリナーゼの欠損による先天性代謝異常疾患とし

て知られるニーマンピック病(NPD)タイプA患者由来の線維芽細胞を用い、IL-1,TNFによるIL-8遺伝子の活性化における酸性スフィンゴミエリナーゼの役割を検討した。

タイプA-NPD由来線維芽細胞株は、National Institute of the General Medical Sciences Human Genetic Mutant Cell Repositoryより2株取りよせ、また岐阜大学小児科教室で樹立された1株を加えた。これら3つのタイプA-NPD由来線維芽細胞株についてその酸性スフィンゴミエリナーゼ活性を確認したところ、正常の線維芽細胞と比較して1%以下であった。実験としては、タイプA-NPDおよび正常線維芽細胞をIL-1またはTNFの存在下で24時間培養し、培養上清中のIL-8蛋白の濃度をELISA法を用いて測定した。またIL-1,TNF刺激後のIL-8mRNAのレベルはノーザンブロット法により調べた。その結果、上記の3つのタイプA-NPD線維芽細胞株において、IL-1およびTNF刺激により顕著なIL-8の産生が誘導されることがわかった。また、このうち2つのタイプA-NPD細胞株については、ノーザンブロットにおいて、IL-1またはTNF刺激2時間後に、顕著なIL-8 mRNAの誘導がみられることを確認した。IL-1,TNFによるIL-8遺伝子発現誘導にはNFκBの活性化が重要であることが示唆されているため、次にIL-8遺伝子上流域のNFκB結合部位をプローブに用いてゲルシフト法によりNPD線維芽細胞でのNFκBの活性化を調べた。その結果、タイプA-NPD線維芽細胞においても、正常細胞と同程度にIL-1,TNFによるNFκBの活性化が起こることがわかった。またRelファミリー分子に対する抗体を用いたスーパーシフトアッセイの結果から、p65とp50が、タイプA-NPD線維芽細胞において検出されるκB複合体の主なコンポーネントであることがわかった。以上の様に、酸性スフィンゴミエリナーゼを欠損するタイプA-NPD線維芽細胞においては、正常細胞と同程度にIL-1,TNFによるIL-8遺伝子の活性化、NFκBの活性化が起こることがわかった。このことから、少なくとも線維芽細胞においても、酸性スフィンゴミエリナーゼ経路は、IL-1またはTNFによるNFκBの活性化を介したIL-8遺伝子の活性化に必須ではないことが示唆された。中性スフィンゴミエリナーゼについては、その特異的阻害剤が見い出されていないため、現在のところIL-8遺伝子発現誘導におけるその役割を調べることは難しい。今後、中性スフィンゴミエリナーゼ活性化経路の解析とその上流に対する特異的阻害剤を用いることにより、セラミドをセカンドメッセンジャーとする経路がどの程度IL-1,TNFによるサイトカイン遺伝子の活性化に関与するかが明らかになるとと思われる。

Report (1 results)

1994 Annual Research Report

Research Products (6 results)

All Other

All Publications (6 results)

[Publications] Kuno,K.et al.: "Acid sphingomyelinase is not essential for IL-1 and TNF receptor signaling pathway leading to NFκB activation." Int.Immunol.6. 1269-1272 (1994) ▼

[Publications] Harada A.et al.: "Molecular cloning of cDNA encoding mouse interleukin-8(IL-8)receptor." Gene. 142. 297-300 (1994) ▼

[Publications] Murayama,T.et al.: "Enhancement of human cytomegarlovirus replication in human lung fibroblastic cell line by interleukin 8." J.Virology. 68. 7582-7585 (1994) ▼

[Publications] Ishikawa Y.et al.: "Establishment of LPS-dependent nuclear factor kappa B activation in a cell-free system." J.Biol.Chem.(in press). (1995) ▼

[Publications] Yasumoto K.et al.: "Molecular analysis of the cytokine network involved in cachexia in colon 26 adenocarcinoma-bearing mice." Cancer Research. 55. 921-927 (1995) ▼

[Publications] Kuno K.et al.: "The IL-1 receptor signaling pathway." J.Leukocytology. 56. 542-547 (1994) ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-06770240/>

Published: 1994-03-31 Modified: 2016-04-21