

	ふ ばん くい
氏 名	VU VAN QUY
学位(専攻分野)	博 士 ( 学 術 )
学 位 記 番 号	博 1 1 2 9 号
学 位 授 与 の 日 付	令和 6 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専 攻	工芸科学研究科 バイオテクノロジー専攻
学 位 論 文 題 目	<b>Studies on alantolactone and porphyrin derivatives targeting the NF-κB signaling pathway</b> (NF-κB シグナル伝達経路を標的としたアラントラクトンおよびポルフィリン誘導体の研究)
審 査 委 員	(主査)教授 片岡 孝夫 教授 宮田 清司 教授 亀井加恵子 准教授 吉田 英樹

### 論文内容の要旨

転写因子 nuclear factor κB (NF-κB)は、tumor necrosis factor α (TNF-α)などの炎症性サイトカインや Toll 様受容体リガンドによって活性化される。本論文は、TNF-α によって誘導される NF-κB シグナル伝達経路に対するアラントラクトン誘導体、ポルフィリン誘導体、セスキテルペン類の作用メカニズムに関する研究を行なったものであり、「序論」、第 1 章「アラントラクトン誘導体は TNF-α によって誘導される NF-κB 経路をアラントラクトンとは異なるメカニズムで阻害する」、第 2 章「 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するセスキテルペン類はヒト肺がん腫 A549 細胞においてエクトドメインシェディングを促進することによって TNF レセプター1 をダウンレギュレーションする」、第 3 章「ポルフィリン誘導体は TNF-α が誘導する遺伝子発現を阻害し NF-κB シグナル伝達経路の細胞内コンポーネントの発現を減少させ、クロスリンク体を増加させる」、「結論」から構成され、英文で記述されている。

序論では、本研究の背景について記述している。NF-κB ファミリーは、NF-κB1/p50、NF-κB2/p52、RelA/p65、RelB、c-Rel の 5 つのメンバーから構成されている。NF-κB メンバーに共通の Rel ホモロジードメインは DNA 結合、二量体化、阻害タンパク質との相互作用、核移行に関与している。NF-κB は inhibitor of NF-κB (IκB)と会合してサイトゾルに局在している。NF-κB シグナル伝達経路では、IκB キナーゼ複合体による IκB $\alpha$  のリン酸化、IκB $\alpha$  のユビキチン化、プロテアソーム分解が進行する。IκB $\alpha$  分解によって遊離した NF-κB ダイマーは、核へ移行し標的遺伝子を活性化する。この NF-κB シグナル伝達経路では、細胞表面 TNF レセプター1、IκB キナーゼ複合体、NF-κB ダイマーが小分子化合物のターゲットとして重要であり、それぞれを標的する阻害剤について記述されている。さらに、オイデスマン型セスキテルペンラクトンであるアラントラクトンが NF-κB シグナル伝達経路を阻害すること、並びにポルフィリン類がクロロフィルやヘムとして自然界に広く存在し、一部のポルフィリン類が NF-κB 経路を阻害することを記述している。最後に、第 1 章、第 2 章、第 3 章の概要について記述している。

第 1 章では、理化学研究所 NPDepo 化合物ライブラリーから同定したアラントラクトン誘導体の作用メカニズムについて記述している。TNF-α で刺激したヒト肺がん腫 A549 細胞において、

アラントラクトン誘導体は細胞接着因子 intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)の発現を阻害した。アラントラクトン誘導体は、アラントラクトンとは異なり、TNF- $\alpha$  で誘導される I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化と分解、及び NF- $\kappa$ B サブユニット RelA の核移行を阻害しなかった。一方、アラントラクトン誘導体は ICAM-1 プロモーターへの RelA の結合を阻害した。さらに、アラントラクトンとアラントラクトン誘導体の阻害活性はグルタチオンによって抑制された。これらの結果から、アラントラクトン誘導体がアラントラクトンとは異なるメカニズムで TNF- $\alpha$  で誘導される NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路を阻害すると結論している。

第 2 章では、 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するセスキテルペソニクルペニン類の作用メカニズムについて記述している。アラントラクトンは  $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するオイデスマン型セスキテルペソニクルペニンである。A549 細胞において、アラントラクトンは TNF レセプター1 の発現を選択的に低下させ、培地中の可溶性 TNF レセプター1 を増加させるエクトドメインシエディングを誘導した。8 種類のオイデスマン誘導体の構造活性相関から、分子内の  $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造が TNF レセプター1 のエクトドomainシエディングに必要であることが明らかになった。さらに、 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するゲルマクロライド型セスキテルペソニクルペニンであるパルテノリドとコスツノリドが可溶性 TNF レセプター1 を増加させた。これらの結果から、 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するセスキテルペソニクルペニン類が TNF レセプター1 の発現をエクトドomainシエディングによってダウンレギュレーションすると結論している。

第 3 章では、理化学研究所 NPDepo 化合物ライブラリーから同定したポルフィリン誘導体の作用メカニズムについて記述している。A549 細胞において、ポルフィリン誘導体は TNF- $\alpha$  で誘導される ICAM-1 タンパク質と ICAM-1 mRNA の発現を阻害した。ポルフィリン誘導体は NF- $\kappa$ B サブユニット RelA タンパク質を低下させたが、この作用はプロテアソーム阻害剤やリソソーム依存性タンパク質分解に対する阻害剤では抑制されなかった。さらに、ポルフィリン誘導体は TNF レセプター1 複合体の構成タンパク質の発現の低下とクロスリンク体の増加を促進した。ポルフィリン誘導体によるクロスリンク体の増加は、NF- $\kappa$ B シグナル伝達に共通した I $\kappa$ B 複合体  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  サブユニットや NF- $\kappa$ B RelA/p50 サブユニットのクロスリンク体を増加させた。これらの結果から、ポルフィリン誘導体は NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路に必要な細胞内コンポーネントの発現の低下とクロスリンク体の増加を促進すると結論している。

結論では、本研究の実験結果についての総括、及び今後の展望について記述している。

## 論文審査の結果の要旨

転写因子 NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路は、炎症反応に関わる様々な遺伝子を活性化し、炎症性疾患やがんなどの発症に関与している。したがって、NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路を標的とする小分子化合物は、抗炎症剤や抗がん剤として有用であると考えられている。

申請者は、理化学研究所 NPDepo 化合物ライブラリーのスクリーニングで同定したアラントラクトン誘導体とポルフィリン誘導体の NF- $\kappa$ B シグナル経路における作用メカニズムを解明した。さらに、 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するセスキテルペソニクルペニン類の NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路の作用メカニズムを解明した。

第1章では、アラントラクトン誘導体が、アラントラクトンとは異なり、NF-κB サブユニットの核移行を阻害せず、ICAM-1 プロモーターへの DNA 結合を阻害することを示した。これらの結果から、アラントラクトンの誘導体合成によって、IκB キナーゼより下流の NF-κB シグナル伝達経路における抗炎症作用に重要な分子ターゲットを明らかにした。

第2章では、アラントラクトンが TNF レセプター1 のエクトドメインシェディングを誘導することをはじめて明らかにした。さらに、 $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン構造を有するオイデスマニ型セスキテルペンやゲルマクロライド型セスキテルペンが TNF レセプター1 のエクトドメインシェディングを誘導することを示した。これらの結果から、NF-κB シグナル伝達経路におけるセスキテルペン類の共通した抗炎症作用の分子ターゲットを明らかにした。

第3章では、ポルフィリン誘導体が NF-κB シグナル伝達経路を抑制する強力な抗炎症活性を有することを示した。さらに、ポルフィリン誘導体が IκB キナーゼ複合体、NF-κB サブユニット、TNF レセプター1 複合体を構成するタンパク質の発現の低下とクロスリンク体の増加を誘導する新しい作用メカニズムを明らかにした。

これらの研究は、NF-κB シグナル伝達経路におけるアラントラクトン誘導体とポルフィリン誘導体の新しい作用メカニズムを明らかにしたものであり、本研究の学術的な意義は高いと評価できる。さらに、これらの小分子化合物は、炎症性疾患やがんに対する治療薬の開発に向けてのリード化合物や新しい分子ターゲットの同定にも貢献できる可能性を有している。

学位論文は、申請者が筆頭著者である査読制度が確立されている下記の国際科学雑誌に掲載されている原著論文2編を基礎としている。

- 1) Quy Van Vu, Kosuke Baba, Saki Sasaki, Koichiro Kawaguchi, Hiroyuki Hirano, Hiroyuki Osada, Takao Kataoka. Alantolactone derivatives inhibit the tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced nuclear factor κB pathway by a different mechanism from alantolactone. *European Journal of Pharmacology*, 969, 176458, 2024.
- 2) Quy Van Vu, Shinsei Sayama, Masayoshi Ando, Takao Kataoka. Sesquiterpene Lactones Containing an  $\alpha$ -Methylene- $\gamma$ -Lactone Moiety Selectively Down-Regulate the Expression of Tumor Necrosis Factor Receptor 1 by Promoting Its Ectodomain Shedding in Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells. *Molecules*, 29, 1866, 2024.

参考論文として、申請者が筆頭著者である査読制度が確立されている下記の国際科学雑誌に掲載されている原著論文1編がある。

- 3) Quy Van Vu, Nhat Thi Vu, Kosuke Baba, Saki Sasaki, Ryuichi Tamura, Kyoko Morimoto, Hiroyuki Hirano, Hiroyuki Osada, Takao Kataoka. Porphyrin derivatives inhibit tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced gene expression and reduce the expression and increase the cross-linked forms of cellular components of the nuclear factor κB signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*, 977, 176747, 2024.