

論文審査結果報告書

論文提出者氏名 浦田 真梨子

学位論文題目 A peptide that blocks the interaction of NF- κ B p65 subunit with Smad4 enhances BMP2-induced osteogenesis

審査委員

(主査) 瀬田 祐司

(副査) 有吉 渉

(副査) 松尾 拓



論文審査結果の要旨

本研究では、骨形成促進作用を有する薬剤の開発を目的として、NF- κ B の機能に影響を与えずに BMP シグナルを亢進し骨芽細胞分化と骨形成を促進する SBD ペプチドの効果について検索したものである。

転写因子 nuclear factor κ B (NF- κ B) の p65 TA2 ドメインと Smad4 MH1 ドメインの結合領域をアミノ酸レベルで同定するため、GST 融合 TA2 欠失変異体を作製し、Smad4 MH1 との結合を GST pull down assay で検討したところ、TA2 の 428 番目のアミノ酸から 443 番目のアミノ酸の領域が Smad4 MH1 と結合した。この領域のアミノ酸配列をもとに Smad4-binding domain (SBD) ペプチドを合成し、GST pull down assay や免疫沈降法によって、SBD ペプチドが TA2 と MH1 の結合を阻害し、p65 と Smad4 の会合を阻害することを確認した。次にマウス前骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 細胞を用いて BMP シグナルや BMP2 が誘導する骨芽細胞分化に対する SBD ペプチドの効果を検討した。SBD ペプチドは BMP2 刺激による Smad1/5 のリン酸化に影響しなかったが、BMP の標的遺伝子である Id1 の mRNA 量を増加させ、さらに骨芽細胞分化マーカーの ALP 活性やオステオカルシンの発現量も増加させた。また SBD ペプチドは BMP による Primary osteoblast の石灰化を亢進した。一方、SBD ペプチドは TNF α が誘導する I κ B α の分解や p65 のリン酸化、さらには NF- κ B の標的遺伝子 IL-6 発現の量に影響を与えなかった。BMP2 単独または BMP2 と SBD ペプチドを含有したコラーゲンペレットをマウス筋膜下に移植すると、BMP2 と SBD 含有群で皮質骨の密度の高い異所性骨が形成された。

以上から、SBD ペプチドは NF- κ B シグナルに影響を与えることなく BMP シグナルを亢進し骨芽細胞分化と骨形成を促進すると考えられる。本研究は骨形成促進作用を有する薬剤の開発につながると考えられる有意義な論文である。公開審査において行った質疑応答に対して、申請者から十分な回答が得られた。以上のことから、審査委員会では本研究が学位論文に十分に値すると判断した。