

京都大学	博士（医学）	氏名	WAJID AMIN
論文題目	Necessity of <i>HuR/ELAVL1</i> for activation-induced cytidine deaminase-dependent decrease in topoisomerase 1 in antibody diversification (抗体多様化において HuR/ELAVL1 は activation-induced cytidine deaminase 依存性の topoisomerase1 の減少に必要である)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>AID 依存性の高知遺伝子 DNA 切断は、クラススイッチ (CSR) や体細胞変異 (SHM) のような刺激に応じた抗体多様化の最初の段階である。AID 依存性の Topoisomerase1 (Top1) タンパク質の減少が効果的な DNA 切断に必要であることは報告されていたが、その分子基盤は不明であった。本研究では、アデニン (A)-ウリジン (U) リッチ配列に結合する HuR/ELAVL1 に焦点を当てて解析が行われた。</p> <p>マウス B リンパ腫由来の HuR ノックアウト (KO)-CH12 細胞では、CSR と SHM の頻度が低下していたが、それは DNA 切断効率が低下しているためであった。</p> <p>HuR-KO 細胞では、従来マウス初代培養 B 細胞で報告されているような細胞増殖や myc 発現の異常はなかった。さらに、酸化ストレスを救済する薬剤を用いても CSR と SHM の低下に変化はなく、HuR-KO-CH12 細胞では酸化ストレスなどが DNA 切断効率低下の原因ではないことが示された。</p> <p>さらに、HuR は AU リッチ配列を含む Top1 mRNA に結合する可能性があった。加えて HuR-KO-CH12 細胞では AID 依存性の Top1 タンパク質の低下が認められないため、実際に、抗 HuR 抗体を用いた免疫沈降法により、HuR が Top1 mRNA と結合すること、Top1 3'UTR の末端付近に最も強く結合すること、AID 活性化により、その結合が強まることを確認した。また、ポリソーム解析により、AID 活性化による Top1 の翻訳状態低下が HuR-細胞ではキャンセルされていることを示した。</p> <p>HuR-KO 細胞では Top1 減少が起きないために CSR が下がっているのであれば、強制的に Top1 を siRNA で減少させた場合に、CSR が上がることを予想された。siRNA 実験では、HuR-KO 細胞で認められた IgG3 へのクラススイッチ低下は siTop1 により完全にレスキューされた。IgA へのクラススイッチ低下は部分的にしかレスキューされず、HuR には Top1 以外の制御標的があることが理由として考えられた。</p> <p>以上の結果から、HuR は抗体遺伝子多様化の開始に必要であり、AID 依存的な Top1 タンパク質生成の抑制制御を通じて、獲得免疫の形成に貢献していることが明らかになった。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>B 細胞のクラススイッチ (CSR) 組換えにおける効果的な抗体遺伝子 DNA 切断には、AID 依存性の Topoisomerase1 (Top1) タンパク質の減少が必要であるが、その分子基盤は不明であった。本研究で作成された B リンパ腫由来 HuR ノックアウト (KO)-CH12 細胞では、DNA 切断効率の低下による CSR と SHM の頻度低下が起きていた。この HuR-KO 細胞では、細胞増殖や myc 発現の異常はなかった。さらに、酸化ストレスを救済する薬剤を用いても CSR の低下に変化はなく、従来、マウス初代培養 B 細胞で認められた酸化ストレスなどが DNA 切断効率低下の原因ではないことが示された。</p> <p>さらに HuR が Top1 mRNA と結合し、AID 活性化により、その結合が強まること、また、AID 活性化による Top1 の翻訳低下が HuR-KO 細胞ではキャンセルされることが示された。</p> <p>HuR-KO 細胞で Top1 減少が認められないため、siRNA による強制的 Top1 減少実験が行われ、HuR-KO 細胞での IgG3 への CSR 低下が siTop1 により完全にレスキューされた。IgA への CSR 低下は部分的にしかレスキューされず、HuR には Top1 以外の制御標的があると考えられた。これらの結果から、HuR は AID 依存的な Top1 タンパク質生成の抑制制御を通じて、抗体遺伝子多様化に必要であり、獲得免疫の形成に貢献することが明らかになった。</p> <p>以上の研究は HuR が果たす抗体遺伝子多様化分子機構の解明に貢献し免疫による生体防御機構の理解に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和5年5月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>

要旨公開可能日： 年 月 日以降