

京都大学	博士 (医学)	氏名	伏屋 康寛
論文題目	<p>The HOIL-1L ligase modulates immune signalling and cell death via monoubiquitination of LUBAC  (HOIL-1L ユビキチンリガーゼは LUBAC をモノユビキチン化することで免疫応答と細胞死を制御する)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>ユビキチンリガーゼ (E3) 複合体である LUBAC は直鎖状ユビキチン鎖を特異的に生成することで刺激依存的な NF-κB の活性化や細胞死の抑制に対して中核的な機能を果たしている。近年 LUBAC は赤痢菌やサルモネラ菌などの細菌感染症やウイルス感染症制御に深く関わることや、その機能低下によりヒトで自己炎症を伴う免疫不全症を発症することなどが明らかとなり、臨床面においても注目されつつある分子である。LUBAC は直鎖状ユビキチン鎖生成の活性中心を有する HOIP と調節サブユニットである HOIL-1L、SHARPIN の 3 サブユニットから構成されるが、直鎖状ユビキチン鎖を生成する HOIP のみならず、HOIL-1L も E3 活性を有することが知られていた。つまり LUBAC は一つの E3 複体内に全く異なる二つの E3 を有するという点でも興味深いのだが、HOIL-1L の E3 活性が果たす役割は不明であった。</p> <p>本研究では HOIL-1L の E3 活性が果たす役割を解析する為、E3 活性を消失した HOIL-1L 変異体を細胞に導入した。その結果、LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成が著増することで、NF-κB 活性化や細胞死抑制機能が顕著に亢進することを見出し、HOIL-1L の E3 活性が LUBAC の機能を抑制していることを明らかにした。またその分子メカニズムの解析を進め、HOIL-1L が LUBAC の全サブユニットの一つユビキチンを付加し、そのユビキチンの上に HOIP が直鎖状ユビキチン鎖 (直鎖) を付加することで LUBAC 自身を直鎖化することを明らかにした。LUBAC 自身の直鎖化は LUBAC の機能低下を引き起こすこと、また LUBAC と結合し直鎖を選択的に切断する脱ユビキチン化酵素である OTULIN が LUBAC 上の直鎖を剪定することで LUBAC の機能を維持することは知られていた為、HOIL-1L の E3 活性は HOIP による LUBAC 自身の直鎖化を誘発する足場を作ることで LUBAC の機能を抑制し、さらに OTULIN がその抑制性制御に対して拮抗するという E3 複合体の全く新しい制御機構を明らかにした。</p> <p>次に HOIL-1L の E3 活性欠損による LUBAC の機能賦活により、感染防御機能が亢進するかを解析した。HOIL-1L の E3 活性欠損細胞に細胞内寄生菌であるサルモネラ菌を感染させた所、野生型に比べサルモネラ菌に直鎖状ユビキチン鎖が多量に付加されることで菌の増殖を抑制し、さらに菌感染により誘導される細胞死も抑制されることを明らかにした。また生理的役割を解析する為に HOIL-1L E3 欠損マウスを作成した所、発達発育は正常であったが全身の臓器で直鎖状ユビキチン鎖が著増し、LPS / D-GalN</p>			

投与で生じる急性の肝細胞死を著明に抑制した。さらに LUBAC のサブユニットの一つである SHARPIN が欠損し、LUBAC の機能低下により皮膚炎が生じる cpdm マウスにおいて HOIL-1L の E3 活性を欠損させると、皮膚炎が完治することを明らかにした。

以上より本研究は一つの E3 複体内に存在する副活性 (HOIL-1L E3) が主活性 (HOIP E3) を抑制し、さらに同複合体に結合する脱ユビキチン化酵素がその抑制性制御に拮抗する、という新しい分子制御機構を明らかにしたことが科学的に意義がある。また同制御機構の解明により LUBAC を賦活化する方法を明らかにしたことで今後感染症や免疫不全症の治療に繋がる可能性もあり医学的意義も認められる。

(論文審査の結果の要旨)

LUBAC ユビキチンリガーゼ (E3) 複合体は直鎖状ユビキチン鎖を生成することで免疫応答に重要な転写因子である NF-κB の活性化や細胞死の抑制、及び細胞内寄生菌の感染制御に関与する。LUBAC は 3 サブユニットから構成され、直鎖状ユビキチン鎖を生成する HOIP のみならず、HOIL-1L も E3 活性を有するが、その役割は不明であった。

本研究では HOIL-1L リガーゼの機能解析を進め、HOIL-1L は LUBAC の全サブユニットにユビキチンを 1 つ結合させるモノユビキチン化能を有することを発見した。さらに、HOIP が、HOIL-1L が結合させたモノユビキチンを認識して LUBAC を自己直鎖状ユビキチン化することで LUBAC の機能を抑制すること、すなわち、LUBAC は副活性である HOIL-1L の E3 を用いて主活性である HOIP による基質タンパク質への直鎖状ユビキチン化を制御していることを解明した。

さらに、HOIL-1L の E3 活性の喪失が直鎖状ユビキチン鎖の生成亢進を介して、NF-κB 活性化や細胞死抑制機能を亢進させること、サルモネラ菌の感染を抑制できることに加え、LUBAC 機能不全によって発症する自己炎症性疾患の症状をほぼ消失できることを明らかにした。

以上の研究は LUBAC 複合体の分子制御機構の解明、及びその機能亢進による新規免疫賦活化・感染症制御法の解明に大きく寄与するものである。

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。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 8 月 2 6 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。