



TITLE:

# 炎症刺激時における炎症関連 RNA分解酵素Regnase-1の制御機構 の解析( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

赤木, 宏太郎

---

CITATION:

赤木, 宏太郎. 炎症刺激時における炎症関連RNA分解酵素Regnase-1の制御機構の解析. 京都大学, 2022, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2022-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k24048>

RIGHT:

出典 IRAK1-dependent Regnase-1-14-3-3 complex formation controls Regnase-1-mediated mRNA decay eLife, 10, e71966, 2021 DOI: 10.7554/eLife.71966

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	赤木 宏太郎
論文題目	炎症刺激時における炎症関連RNA分解酵素Regnase-1の制御機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>RNA 分解酵素である Regnase-1 は、Interleukin (IL)-6 などの炎症関連分子をコードする mRNA を分解することにより、過剰な炎症が起きるのを防ぐ役割を担うと考えられている。一方、IL-1<math>\beta</math>や Lipopolysaccharide (LPS) などの炎症刺激下において、Regnase-1 自体のタンパク質発現がどのような制御を受けるかについては不明な点が残されていた。申請者は Regnase-1 結合タンパク質の網羅的な解析を行い、IL-1<math>\beta</math>刺激依存的な Regnase-1 の結合パートナーとして 14-3-3 タンパク質を同定した。14-3-3 はリン酸化タンパク質に結合することが知られており、IL-1<math>\beta</math>刺激により Regnase-1 のアミノ酸配列における 494 番目と 513 番目の 2 つのセリン残基(S494、S513)がリン酸化を受けることにより、14-3-3 と結合することが分かった。また、Regnase-1 と 14-3-3 の結合は IL-1<math>\beta</math>だけでなく、LPS などの Toll-like receptor リガンド刺激によっても誘導された。Regnase-1 と 14-3-3 の結合を誘導するこれらの刺激の細胞内シグナル伝達は、アダプタータンパク質 MyD88 に依存しており、その下流で活性化する IL-1 receptor-associated kinase 1 の C 末端構造ドメインが Regnase-1 と 14-3-3 の複合体形成に必須であることが分かった。MyD88 依存性の刺激下においては、Regnase-1 が <math>\beta</math>-transducin repeat-containing protein (<math>\beta</math>TRCP) と結合し、ユビキチン化を介したタンパク質分解を受けることが知られているが、14-3-3 は <math>\beta</math>TRCP と Regnase-1 の結合を阻害し、Regnase-1 のタンパク質安定化に寄与している可能性が示唆された。実際に、Regnase-1 が 14-3-3 と結合できないような変異 (Regnase-1 S513A/S513A 変異)を持つノックインマウスを作製し、そのマウス由来の細胞を解析したところ、変異 Regnase-1 は MyD88 依存性の刺激下でタンパク質として不安定であることが分かった。その一方で、14-3-3 と結合したタンパク質として安定な Regnase-1 は分解標的 mRNA と結合することができず、Regnase-1 の RNA 分解酵素としての機能が抑制されることが、RNA 免疫沈降などの解析により明らかとなった。さらに、14-3-3 と結合していない Regnase-1 が細胞内で核と細胞質をシャトルする性質を持つのに対し、14-3-3 と結合した Regnase-1 は核への移行ができなくなっていることが分かった。以上の解析結果から、MyD88 依存性の刺激下では、14-3-3 が Regnase-1 を細胞質にとどめ、Regnase-1 の機能を抑制することにより、炎症関連遺伝子が適切に発現するように調節していると結論づけた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

Regnase-1は、IL-6など炎症に関連する分子をコードするmRNAを分解し、炎症反応を抑制するタンパク質である。過剰な炎症反応は外来病原体の排除だけでなく、自己組織にまでダメージを与えることから、Regnase-1は過剰な炎症反応を抑える重要な役割を持つということが知られている。一方で、炎症反応の過度の抑制は病原体感染防御応答には不利に働くことから、Regnase-1の機能が精緻に制御されていることが示唆されている。本研究は炎症刺激、特にIL-1 $\beta$ やLPSによる刺激を受けた細胞における、Regnase-1タンパク質の機能制御機構について詳細に検証した。

研究の起点として、IL-1 $\beta$ 刺激依存的にRegnase-1に結合するタンパク質を網羅的に解析し、これまで知られていた $\beta$ TRCPタンパク質の他に、新たに14-3-3タンパク質を同定した。さらに、Regnase-1変異体を用いた解析から、14-3-3がS494とS513の部位にリン酸化を受けたRegnase-1に結合することを見出した。S513をアラニンに置換したRegnase-1を発現するノックインマウスの解析から、S513リン酸化がRegnase-1と14-3-3の結合に必須であること、またRegnase-1と結合した14-3-3がRegnase-1をタンパク質レベルで安定化させることを示した。他方、Regnase-1に結合した14-3-3は、Regnase-1と分解標的mRNAとの結合を阻害し、Regnase-1の機能を抑制していることも見出した。さらに本研究では、未刺激状態の細胞でRegnase-1が核と細胞質をシャトルすることを明らかにしており、14-3-3と結合したRegnase-1は核と細胞質のシャトリングが阻害された状態にあるということも示した。これらの結果より、14-3-3がRegnase-1と核と細胞質のシャトリングを阻害することで、Regnase-1と標的mRNAとの結合を抑制し、その機能を制御するという新たなモデルを提唱した。

このように本研究は、タンパク質結合や細胞内動態といった様々な視点からのアプローチによって、炎症刺激時におけるRegnase-1タンパク質の新たな制御機構を明らかにすることに成功しており、高く評価できる。

本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、細胞生物学および免疫学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、令和4年1月28日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日