

氏 名	伊 藤 聡 美
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2944 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 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	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Activation-induced cytidine deaminase shuttles between nucleus and cytoplasm like apolipoprotein B mRNA editing catalytic polypeptide ¹ (AID は APOBEC1 と同様に核と細胞質間をシャトリングしている)
論文調査委員	(主 査) 教 授 生 田 宏 一 教 授 武 藤 誠 教 授 鍋 島 陽 一

論 文 内 容 の 要 旨

Activation-induced cytidine deaminase (AID) は免疫グロブリンのクラススイッチ組換え (class switch recombination, CSR) 及び体細胞高頻度突然変異 (somatic hypermutation, SHM) に必須の cytidine deaminase である。AID は pre-mRNA または DNA のシトシンをウラシルへ変換することにより間接または直接的に DNA の切断に関与すると考えられている。しかし、その機能の詳細は未だ明らかにされていない。AID-green fluorescent protein (GFP) 融合タンパク質は細胞質に局在することから、AID が核内の基質 mRNA または DNA に作用するための細胞内局在制御機構が働いていると考えられた。そこでその機構を明らかにするため局在を決める領域の同定を行った。

ヒト AID (human AID, hAID) 及びその mutant の C 末に GFP を融合させたタンパク質をレトロウイルスシステムにより NIH3T3 細胞に導入し、AID 上の変異や exportin1 阻害剤 Leptomycin B (LMB) による局在の変化を顕微鏡下に観察した。その結果、hAID-GFP は細胞質に局在したが、LMB 処理後、大部分は核に蓄積した。この結果より AID が核と細胞質間をシャトリングしており、この核外移行が exportin1 依存的であることが明らかになった。また、高 IgM 症候群の患者から得られた 183 残基に frame-shift mutation をもつ mutant JP8B と GFP の融合タンパク質は核に蓄積し、シャトリングしなかったことから AID の C 末に核外移行シグナル (nuclear export signal, NES) があることが同定された。また N 末の 10 残基欠損 mutant は核移行ができなかったが、5 残基欠損 mutant では核移行することから N 末の 5 残基から 10 残基に核内移行シグナル (nuclear localization signal, NLS) があることが示唆され、さらにデータベース検索により 9 残基から 26 残基に NLS motif があることが明らかになった。

以上、本研究より AID は N 末に NLS、C 末に NES をもち、核と細胞質間をシャトリングしていることが明らかにされた。AID は ApoB100 mRNA editing 酵素である APOBEC1 と遺伝的相同性、構造的、生化学的類似性をもつことから未知の pre-mRNA を編集することにより CSR のリコンビナーゼや SHM のミューターの mRNA がつくられることが予想されるが、未だ pre-mRNA の同定には至っていない。近年、APOBEC1 が N 末の NLS 及び C 末の NES により核と細胞質間をシャトリングしていることが報告されたことから機能的な類似性を持つこと、AID が mRNA を編集する可能性が強く示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

学位授与申請者・伊藤聡美は免疫グロブリンのクラススイッチ組換え及び体細胞高頻度突然変異に必須であり、DNA 切断に関与すると考えられている Activation-induced cytidine deaminase (AID) の細胞内局在決定機構を以下に示す方法により解明した。

AID-GFP 融合蛋白質 (AID-GFP) は細胞質に局在することから、AID が核内の基質 mRNA または DNA に作用するための細胞内局在制御機構が働いていると考えられたため、局在決定領域の同定を行った。AID-GFP を NIH3T3 細胞に

導入し、核外移行阻害剤処理後、局在変化を顕微鏡下に観察した結果、大部分が核に蓄積したことより AID が核と細胞質間をシャトリングしていることが明らかになった。また mutant の解析より N 末に核内移行シグナル、C 末に核外移行シグナルが同定された。AID は ApoB100 mRNA editing 酵素 APOBEC1 と遺伝的相同性、構造的、生化学的類似性をもつことから未知の pre-mRNA を編集することが予想される。近年、APOBEC1 が核と細胞質間をシャトリングすることが報告され、AID が mRNA を編集する機能的な類似性をもつ可能性が強く示唆された。

以上の研究は AID の機能解析に貢献し、クラススイッチ組換え及び体細胞高頻度突然変異の分子機構の解明に寄与するところが多い。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平成18年1月25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。