



Crosstalk between NDP52 and LUBAC in Innate Immune Responses, Cell Death, and Xenophagy

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2024-05-09 キーワード (Ja): キーワード (En): NDP52, ubiquitin, LUBAC, NF-kB, apoptosis, xenophagy 作成者: 宮下, 裕久 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10466/0002000730

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



氏名	宮下 裕久		
学位の種類	博士 (医学)		
学位授与年月日	2022年12月31日		
学位論文名	Crosstalk between NDP52 and LUBAC in Innate Immune Responses, Cell Death, and Xenophagy 自然免疫応答と細胞死、ゼノファジーにおける NDP52 と LUBAC のクロストーク		
論文審査委員	主査 教授	徳永 文稔	
	副査 教授	大谷 直子	
	副査 教授	富田 修平	

論文内容の要旨

【目的】 Linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC)は、直鎖状ユビキチン鎖生成を介して炎症・免疫制御に重要な nuclear factor- κ B (NF- κ B)経路を活性化するユビキチンリガーゼである。本研究では、LUBAC とユビキチン結合性オートファジー受容体の nuclear dot protein 52 kDa (NDP52) の細胞機能関連解明を目的とした。

【方法】 NDP52 のユビキチン結合特異性を生化学的に解析するとともに、野生型または NDP52 欠損 HeLa 細胞を用いて、NF- κ B 経路、インターフェロン産生経路、細胞死、及び細胞内侵入細菌によって惹起される選択的オートファジー (ゼノファジー) を評価した。さらに、独自に開発した α , β -不飽和カルボニル型 LUBAC 特異的阻害剤 (HOIPIN-8) の影響を解析した。

【結果】 NDP52 は C 末端 UBZ ドメインを介して非定型ユビキチン鎖 (K27, K29, K63, 直鎖) に比較的高い結合性を示した。野生型 NDP52 の過剰発現は、古典的 NF- κ B 活性化を抑制したが、ユビキチン結合能欠損体は NF- κ B 活性抑制能を喪失した。NDP52 欠損細胞では、野生型に比べて炎症性サイトカインや二本鎖 RNA 刺激に伴う NF- κ B やインターフェロン産生経路の活性化が亢進したことから、NDP52 は自然免疫応答に抑制的に働くことが示された。さらに、NDP52 は TNF- α 刺激に伴って TNF 受容体に一過性に会合し、アポトーシスを抑制した。また、HOIPIN-8 は NDP52 欠損によって上昇した自然免疫応答を抑制し、細胞死を亢進させた。サルモネラ感染細胞では、細胞内侵入菌とオートファゴソーム及び直鎖状ユビキチン鎖の共局在が見られたが、HOIPIN-8 はこれらの共局在を阻害し、菌の細胞内増殖を増加させた。一方、NDP52 欠損細胞ではゼノファジーが部分的に抑制されることが示された。

【結論】 NDP52 はユビキチンに結合することで、自然免疫応答、アポトーシス、選択的オートファジー (ゼノファジー) を制御する因子で、LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖産生と細胞機能的にクロストークすることが明らかになった。

論文審査結果の要旨

ユビキチンは、多様な連結様式でタンパク質に結合することで広範な細胞機能制御を司る。Linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC)は、直鎖状ユビキチン鎖を生成するヒトで唯一のユビキチンリガーゼであり、炎症・免疫制御に重要な nuclear factor- κ B (NF- κ B)経路の活性化、アポトーシス制御、選択的オートファジーに関わる。Nuclear dot protein 52 kDa (NDP52)は、LC3 結合領域(LIR)とユビキチン結合性のユビキチン結合 Zn フィンガー(UBZ)ドメインを有するオートファジー受容体で、細胞内侵入細菌によって惹起される選択的オートファジー(ゼノファジー)に関わる。そこで本研究では、NDP52のユビキチン結合特異性を生化学的に解析するとともに、NF- κ B経路、インターフェロン産生経路、細胞死、及びゼノファジーを評価するとともに、 α 、 β -不飽和カルボニル型 LUBAC 特異的阻害剤(HOIPIN-8)の影響を解明することを目的とした。

ヒト NDP52 は、C 末端 UBZ ドメインを介して非定型ユビキチン鎖 (K27、K29、K63、直鎖) に比較的高い結合性を示した。また、野生型 NDP52 の過剰発現は、古典的 NF- κ B 活性化を抑制したが、ユビキチン結合能欠損体は NF- κ B 活性抑制能を喪失し、NDP52 欠損細胞では、野生型に比べて炎症性サイトカインや二本鎖 RNA 刺激に伴う NF- κ B やインターフェロン産生経路の活性化が亢進したことから、NDP52 は自然免疫応答に抑制的に働くことが示された。さらに、NDP52 は腫瘍壊死因子(TNF- α)刺激に伴ってその受容体に一過性に会合し、アポトーシスを抑制した。また、HOIPIN-8 は NDP52 欠損によって上昇した自然免疫応答を抑制し、細胞死を亢進させた。サルモネラ感染細胞では、細胞内侵入菌とオートファゴソーム及び直鎖状ユビキチン鎖の共局在が見られたが、HOIPIN-8 はこれらの共局在を阻害し、菌の細胞内増殖を増加させた。一方、NDP52 欠損細胞ではゼノファジーが部分的に抑制されることが示された。

本研究から、NDP52 はユビキチンに結合することで、自然免疫応答、アポトーシス、選択的オートファジー(ゼノファジー)を制御する因子で、LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖産生と細胞機能的にクロストークすることが明らかになり、基礎医科学的に有意義な論文である。よって、本論文は博士(医学)の学位を授与されるに値するものと判定された。