

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	呉 艶
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Inflammatory bowel disease-associated ubiquitin ligase RNF183 promotes lysosomal degradation of DR5 and TRAIL-induced caspase activation (炎症性腸疾患に関連するユビキチンリガーゼ RNF183 はリソソームでの DR5 の分解および TRAIL によって誘導されるカスパーゼの活性化を促進する)			
論文審査担当者			
主 査	教授	田 中 信 治	印
審査委員	教授	伊 藤 公 訓	
審査委員	准教授	仲 一 仁	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>ユビキチンリガーゼはユビキチン化反応において重要な酵素であり、基質を認識し、ユビキチン鎖を形成することで、基質の分解や機能調節において重要な役割を果たしている。ユビキチンリガーゼ RNF183 は、潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease, IBD) 患者の大腸や、トリニトロベンゼンスルホン酸で誘導した IBD モデルマウスの大腸において発現が増加していることが最近報告されている。そこで本研究では、RNF183 の IBD における役割を明らかにするため、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 用いた IBD モデルにおける RNF183 の発現変化について解析するとともに、RNF183 の基質を同定することで機能解析を行った。</p> <p>定量的 PCR により、RNF183 mRNA の発現量は DSS 投与に伴って 1 日目から有意に増加し、5 日目まで経時的に増加することが明らかとなった。一方、DSS 投与 5 日目では IL-1β や TNF-α などの炎症マーカーは顕著に増加したものの、DSS 投与 1 日目では有意な増加は認められなかった。このことから、RNF183 は比較的早期に発現が上昇していることがわかり、炎症による二次的誘導ではない可能性が示唆された。次に、DSS で誘導された RNF183 が大腸組織のどの細胞に発現するか調べた。上皮系細胞と免疫系細胞を、それぞれ抗 EpCAM 抗体と抗 CD45 抗体を用いて大腸組織からセルソーターにより分離し、定量的 PCR を行った結果、RNF183 が大腸の上皮系細胞で発現することが判明した。RNF183 の機能を明らかにするためには基質の同定が重要であることから、ショットガンプロテオーム解析を行い、RNF183 の結合タンパク質候補として TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) のレセプターである Death receptor 5 (DR5) を同定した。実際に免疫沈降法により両者が結合することが確認されたため、RNF183 による DR5 のユビキチン化を検討した。その結果、DR5 のユビキチン鎖が RNF183 によって増加したことから、DR5 が RNF183 の基質となることが明らかとなった。また、このユビキチン鎖の増加はリソソーム阻害薬であるクロロキン存在下で顕著となったことから、DR5 が RNF183 によるユビキチン化によりリソソームで分解されることが示唆された。そこで、DR5 の細胞内挙動とタンパク質量に対する RNF183 の影響を調べた。免疫染色により RNF183 を発現する細胞でリソソームに局在する DR5 が増加することが明らかとなった。加えてノックダウンにより RNF183 の発現を抑制すると DR5 の発現量が増加した。以上のことから、RNF183 は DR5 をリソソームへ輸送することで分解を促進することが示された。DR5 は TRAIL が作用するとカスパーゼ-8 を活性化し、カスパーゼ-3 を介してアポトーシスを誘導することが</p>			

知られている。そこで、TRAIL が誘導するアポトーシス経路への RNF183 の影響を調べた。その結果、RNF183 は TRAIL によって誘導されるカスパーゼ-8 やカスパーゼ-3 の活性化を促進することが判明した。

以上の結果から、RNF183 は DSS による大腸炎において大腸上皮細胞で発現が増加し、DR5 をユビキチン化することで、カスパーゼの活性化を促進し、その後 DR5 をリソソームへ輸送することで分解を促進する可能性が示唆された。本論文は RNF183 が DR5 のユビキチン化に関わることを初めて指摘したものであり、RNF183 の発現増加が DR5 を介した IBD の病態に関わる可能性を示したことは高く評価される。

よって、審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するのに十分な価値あるものと認めた。