



Title	Essential Roles of K63-Linked Polyubiquitin-Binding Proteins TAB2 and TAB3 in B Cell Activation via MAPKs
Author(s)	Ori, Daisuke
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/26305">https://hdl.handle.net/11094/26305</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

## 〔論文題名〕

Essential Roles of K63-Linked Polyubiquitin-Binding Proteins TAB2 and TAB3 in B Cell Activation via MAPKs

(K63型ポリユビキチン鎖結合タンパク質であるTAB2およびTAB3の、MAPキナーゼを介したB細胞の活性化における重要な役割)

専攻名： 予防環境医学

氏名： 織 大祐

## 〔目的〕

タンパク質のポリユビキチン化は免疫細胞の活性化において非常に重要な役割を果たしている。K63型ポリユビキチン鎖結合タンパク質であるTAB2およびTAB3は、互いに高い相同性を有し、またTAK1を介したNF- $\kappa$ Bの活性化に関連しているとされている。しかしながら過去の報告より、TAB2のみを欠損したマウス胎仔線維芽細胞 (MEFs)はLPS、TNF、IL-1 $\beta$ の刺激に対して正常なNF- $\kappa$ Bの活性化を示すことがわかっている。本研究ではTAB2およびTAB3の*in vivo*における役割、およびリダンダントな機能を明らかにするため、新たに遺伝子改変動物を作製し、その解析を行った。

## 〔方法ならびに成績〕

常法によりTAB3欠損マウスを作製しB細胞の活性化を評価したところ、TAB3欠損B細胞において、コントロールと同様の活性化が確認された。次にTAB2およびTAB3のリダンダントな機能を明らかにするために、B細胞特異的TAB2欠損マウスを作製し、同様にB細胞の活性化を評価したところ、TAB2およびTAB3(TAB2/3)欠損B細胞においてその活性化が減弱していた。次にB細胞の活性化の減弱が何に起因するのかを明らかにするために、まずNF- $\kappa$ Bの活性化をI $\kappa$ B $\alpha$ の分解およびゲルシフトアッセイにより評価したところ、TAB2/3欠損B細胞においてもNF- $\kappa$ Bの活性化が正常に観察された。次にMAPキナーゼの活性化をp38、Jnk、Erkのリン酸化で評価したところ、TAB2欠損B細胞においてその活性化が減弱し、さらにTAB2/3欠損B細胞ではその減弱の程度がより大きくなっていった。次にTAB2およびTAB3の欠損がTAK1の活性化にどのような影響を与えるのかをTAK1のリン酸化で評価したところ、TAB2/3欠損B細胞においてもTAK1のリン酸化が観察された。

またB細胞において、TAB2を欠損したマウスおよび、TAB2/3を欠損したマウスでは、腹腔内のB-1a細胞の減少、脾臓のマージナルゾーンB細胞・plasma細胞の減少が認められた。さらに同マウスにおいて血清中の抗体をELISAにより測定したところ、IgGの産生低下が認められ、T細胞依存性抗原であるNP-CGGを用いて免疫したマウスにおいても同様に、同マウスにおいてIgGの産生低下が認められた。

次にマクロファージ特異的TAB2欠損マウス、TAB2/3を欠損したマウス胎仔線維芽細胞を作製し、bone marrowマクロファージによる、LPS・CpG DNA・Pam<sub>2</sub>CSK<sub>4</sub>刺激およびNDV感染に対する炎症性サイトカイン産生および、マウス胎仔線維芽細胞による、TNF刺激に対する炎症性サイトカイン産生をELISAにより評価したところ、全ての遺伝子型において差は認められなかった。またNF- $\kappa$ BやMAPキナーゼの活性化においても正常に観察された。

## 〔総括〕

遺伝子改変動物を用いた解析によりTAB2およびTAB3は、マクロファージやMEFsではなく、B細胞におけるMAPキナーゼの活性化の調節において重要な役割を果たしていることが明らかになった。今後より詳細に解明が進むことにより、TAB2/3をターゲットとし、他の細胞に影響を与えることなく過剰なB細胞活性化を抑制するといった治療へと応用できる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 織 大祐

		(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	梶 良 静 男
	副 査	大阪大学教授	菅 瀬 尚
	副 査	大阪大学教授	熊 一 郎 淳

## 論文審査の結果の要旨

NF- $\kappa$ BおよびMAPキナーゼは免疫細胞の増殖や細胞の生存、また多くの前炎症性遺伝子の発現の誘導において非常に重要な役割を果たしている。そのため、様々な免疫反応の理解および医学への応用を実現するために、その調節メカニズムの全貌を明らかにすることが求められている。

申請者は、現在までほぼin vitroでしか研究されてこなかった、K63型ポリユビキチン鎖結合タンパク質であるTAB2・TAB3という分子をより生理的に、また詳細に明らかにしようと、新規に二種の遺伝子改変マウスを作製した。そしてそれらのマウスの解析を行うことによりTAB2・TAB3が、これまで考えられていたように、NF- $\kappa$ BおよびMAPキナーゼを共に調節しているわけではなく、MAPキナーゼの活性化のみを調節することにより、B細胞による免疫反応を調節しているということを明らかにした。この研究は免疫反応の調節メカニズムにおいて、現在提唱されているものとは異なった新たなメカニズムを提唱するものである。

以上の点より、本申請者は学位の授与に値すると考えられる。