

Title	Interchangeable binding of Bcl10 to TRAF2 and cIAPs regulates apoptosis signaling
Author(s)	由井, 大錦
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43955
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	由井大錦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17577 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Interchangeable binding of Bcl10 to TRAF2 and cIAPs regulates apoptosis signaling (Bcl10 による細胞死シグナル調節)
論文審査委員	(主査) 教授 遠山 正彌 (副査) 教授 長田 重一 教授 辻本 賀英

論文内容の要旨

[目的]

Bcl10 はアポトーシスの中心的な役割を担うカスパーゼファミリーに共通した蛋白構造を持ち、カスパーゼの活性化や NF κ B の活性化に働く。また本蛋白をコードする bcl10 遺伝子の転座が種々のリンパ腫を引き起こすことが報告され、Bcl10 が広範な組織におけるアポトーシス調節制御機構に関与していることが示唆されている。本研究では分子生物学および細胞生物学的手法を用い、Bcl10 がどのようにアポトーシスを制御しているのか、その分子メカニズムの解明を試みた。

[方法ならびに成績]

Bcl10 を発現させた 293T 細胞を抗 Bcl10 抗体を用いてウェスタン解析すると、32 kDa と 35 kDa のダブルバンドが検出された。RI 標識したリン酸の取り込み実験によって、高分子量側のバンドはリン酸化修飾を受けた Bcl10 蛋白であることが分かった。そこでまず最初に、この Bcl10 蛋白のリン酸化がどの経路によって引き起こされるのかを、主要なリン酸化経路の活性化を促進または抑制する薬剤を用いて検討した。PKC の活性を促進する PMA で細胞を処理すると Bcl10 のリン酸化は劇的に増強し、逆に、その阻害剤である H-7 で処理すると Bcl10 のリン酸化は顕著に減弱することから、Bcl10 蛋白は主に PKC 経路によってリン酸化を受けることが分かった。

Bcl10 は 293T 細胞のアポトーシスを引き起こすことが既に知られている。そこで、このアポトーシスシグナルにおける Bcl10 リン酸化の影響を、PKC に対する薬剤を用いて検討した。その結果、薬剤未処理の細胞に比べ PMA による処理をした細胞はアポトーシスが亢進し、H-7 処理によってこのような Bcl10 の効果は抑制された。また、Bcl10 はリンパ系組織において発現量が高く、Bcl10 トランスジェニックマウスでは胸腺や脾臓の顕著な萎縮が起こることが分かっている。そこで、マウス胸腺細胞をモデルに PMA による内在性 Bcl10 のリン酸化への効果を検討した。その結果、胸腺細胞の PMA 処理によっても内在性 Bcl10 蛋白は顕著にリン酸化が促進され、薬剤未処理の細胞に比べアポトーシスが亢進することを確認した。以上の結果から、リン酸化型 Bcl10 がアポトーシス情報伝達において重要な役割を担っていることが示唆された。

我々は免疫沈降法を用いて Bcl10 が TRAF2 と cIAPs に結合することを確認しており、Bcl10 によるアポトーシス情報伝達にこれら Bcl10 結合蛋白が関与するものと考えられる。そこで Bcl10 とその結合蛋白との複合体形成が、Bcl10 のリン酸化状態に依存して変化するかどうかを検討した。その結果、PMA 処理により Bcl10 がリン酸化すると Bcl10 と共沈する TRAF2 は減少し、逆に cIAP2 との結合は増加した。これとは対照的に、H-7 処理によって Bcl10 は TRAF2 との結合を増し、cIAP2 との結合は減弱した。アポトーシスのシグナル伝達に Bcl10 と cIAP2 との相互作用が必要かどうかを調べるために、まず Bcl10 蛋白を削った変異体を作製し、cIAP2 との共沈に必要なドメインを決定した。cIAP2 との結合部位を欠損した Bcl10 では野生型で見られるようなアポトーシスを誘導しなかったことから、Bcl10 はリン酸化によって cIAP2 と相互作用し、結果的にアポトーシス情報伝達経路の活性化を引き起こすことが示唆された。

[総括]

MALT 型リンパ腫の原因として、bcl10 遺伝子に加え MALT1 遺伝子の転座も報告された。注目すべきことに、MALT1 蛋白も Bcl10 蛋白と複合体を形成し、また MALT1 遺伝子の変異は MALT1-cIAP の融合蛋白を発現する。このことから、Bcl10 を中心とした蛋白間相互作用の異常がリンパ腫の発生に深く関与すると考えられる。またリンパ腫の病理組織解剖において、Bcl10 蛋白の核周囲への異常な濃縮が観察されている。Bcl10 の局在変化が蛋白間の相互作用変化をもたらすとも考えられる。我々の研究から、Bcl10 の機能発現にはリン酸化状態に依存した Bcl10 結合蛋白との相互作用が重要であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

アポトーシスに関連する蛋白群のうち、ごく一部の蛋白はリン酸化を受けることが報告されている。しかし、そのリン酸化の意義はほとんど明かにされていない。蛋白のリン酸化修飾に起因する立体構造変化により蛋白間の相互作用が調節されるならば、アポトーシスシグナルの伝達においてもリン酸化蛋白が重要な役割を担っている可能性がある。学位申請者は MALT 型リンパ腫の原因とされる bcl10 遺伝子の産物、Bcl10 蛋白が PKC によりリン酸化を受けることを発見し、リン酸化に着目した Bcl10 蛋白の機能解析を行った。Bcl10 蛋白は同じくアポトーシスの制御にあたる TRAF2 と cIAP2 と相互作用するが、この相互作用は Bcl10 蛋白のリン酸化状態に依存して変化し得る現象であることを発見した。すなわち、脱リン酸化状態の Bcl10 は TRAF2 と結合し、リン酸化状態の Bcl10 は cIAP2 と結合することを明かにした。この結果は、免疫系組織において PKC 経路により Bcl10 が働き、アポトーシスを制御している可能性を示唆するものである。以上のことから、この論文は Bcl10 蛋白のリン酸化経路およびそのリン酸化による細胞死調節の分子メカニズムを提唱したという点で独創的であり、学位授与に値すると考えられる。