

令和 6 年 4 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15379

研究課題名(和文)直鎖状ユビキチン鎖生成亢進の自己免疫疾患への寄与の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the contribution of increased linear ubiquitin chain signaling to autoimmune diseases

研究代表者

伏屋 康寛 (Fuseya, Yasuhiro)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：60866523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：直鎖状ユビキチン鎖を生成することで免疫細胞を活性化させる複合体ユビキチンリガゼLUBACが、全身性エリテマトーデス(SLE)とシェーグレン症候群(SS)の発症に関わることを明らかにした。申請者はLUBACのサブユニットであるHOIL-1Lの酵素活性を阻害することでLUBACの機能が亢進することを発見していたが、さらにマウスにおいてHOIL-1L酵素欠損が直鎖状ユビキチン鎖の生成亢進を介してSLE及びSS様症状を発症すること、またヒトにおいてLUBAC活性を亢進させるHOIL-1L遺伝子の1塩基変異(SNV)がSLE患者群に有意に集積するSLEの疾患感受性遺伝子であることを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウス及びヒトの解析を駆使した本研究によって、LUBACの機能亢進による直鎖状ユビキチン鎖生成亢進が、炎症シグナルを活性化させることで、代表的な自己免疫疾患の一つであるSLEの発症に繋がることが明らかとなった。この結果はLUBACの機能を阻害することができればSLEの新規治療に繋がる可能性があることを示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：We showed that LUBAC ubiquitin ligase complex, which activates immune cells by generating linear ubiquitin chains is involved in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) and Sjogren's syndrome (SS). We had previously discovered that inhibition of the enzymatic activity of HOIL-1L, an accessory subunit of LUBAC, enhances LUBAC function. We recently found that HOIL-1L enzyme deficiency in mice causes SLE and SS-like symptoms through enhanced linear ubiquitin chain formation, and that in humans, a single nucleotide variant (SNV) in the HOIL-1L gene that enhances LUBAC activity is significantly enriched in SLE patients. So, we identified HOIL-1L is a brand-new susceptibility gene for SLE.

研究分野：医学

キーワード：LUBAC HOIL-1L 直鎖状ユビキチン鎖 SLE シェーグレン症候群 NF-kappaB

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス (SLE) とシェーグレン症候群 (SS) は圧倒的に女性に多い代表的な自己免疫疾患であり、免疫細胞の過剰活性化による自己の構成成分に対する免疫応答を特徴とする疾患だが、両疾患とも病因は未解明である。申請者が所属する研究グループはこれまでに LUBAC ユビキチンリガーゼ複合体 (図 1) と、LUBAC が特異的に生成する直鎖状ユビキチン鎖を発見し、同ユビキチン鎖が免疫細胞の活性化に中核的な役割を果たす NF- κ B の活性化に極めて重要な働きを持つことを明らかにしていた (図 2)。

図 1 LUBAC ユビキチンリガーゼ複合体

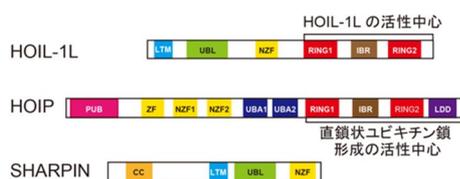
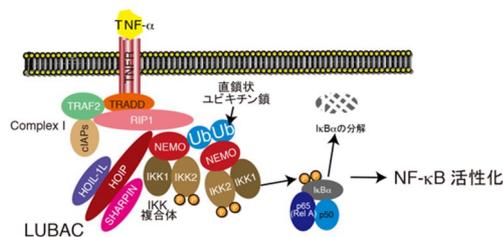


図 2 TNF- α シグナル経路



LUBAC の直鎖状ユビキチン鎖生成の活性中心は HOIP の RING-IBR-RING (RBR) ドメインであるが、HOIL-1L にも RBR ドメインが存在する (図 1)。つまり LUBAC は、1 つの複合体内に 2 種類のユビキチンリガーゼを有するという点でも非常にユニークなユビキチンリガーゼ複合体である。申請者は長らく機能の不明瞭であった HOIL-1L のユビキチンリガーゼ活性に注目して解析を進めた結果、HOIL-1L のユビキチンリガーゼ活性は LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成活性を抑制するという LUBAC の全く新しい制御メカニズムが明らかになった。さらに HOIL-1L のリガーゼ活性を阻害することで LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成が顕著に亢進することで NF- κ B が過剰に亢進し、免疫細胞が過剰に活性化されることを見出した ([Fuseya et al. Nature Cell Biology, 2020](#))。免疫細胞の活性化は自己免疫疾患の発症に寄与するので、LUBAC の機能亢進と自己免疫疾患との関連を解析すべく本研究に着手した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、HOIL-1L リガーゼ活性低下が LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成を顕著に亢進させることで NF- κ B が過剰に亢進し、さらに免疫細胞が過剰に活性化されるとの申請者の発見に基づき、LUBAC の機能亢進と自己免疫疾患との関連を解析すべく本研究に着手した。

3. 研究の方法

HOIL-1L のリガーゼ活性欠失により LUBAC の機能が亢進したマウスを用いて、LUBAC の過剰活性化と自己免疫疾患との関わりを検討した。さらにヒトにおける HOIL-1L/RBCK1 遺伝子の 1 塩基多型/変異 (SNP/SNV) を検索し、HOIL-1L のリガーゼ活性が低下することで LUBAC の機能を亢進させる SNP/SNV を同定し、その SNP/SNV を持つ方と自己免疫疾患との関わりを検討することとした。

4. 研究成果

HOIL-1L リガーゼ活性欠失によって LUBAC の機能が亢進したマウスを詳細に観察した所、メス優位にシェーグレン症候群様の角膜傷害を呈することを見出した (図 3)。さらに検索を進めた結果、免疫細胞の異常集簇を伴う涙腺傷害、シェーグレン症候群に特徴的な自己抗体を認め、

シェーグレン症候群と診断できる所見を得た。ヒトではシェーグレン症候群は SLE に併発することも多いのだが、ヒトと同じく HOIL-1L リガーゼ活性欠失マウスでは、メス優位に SLE に特徴的な免疫複合体沈着性腎炎（ループス腎炎）や、SLE に特徴的な自己抗体も検出された。加えて、両疾患に特徴的な免疫グロブリンの上昇、リンパ節腫脹も認められたことから、LUBAC の機能亢進によって直鎖状ユビキチン鎖シグナルが増強することでマウスでは SLE 及び SS 様の疾患が発症することが明確となった。



図3

我々は 1 アミノ酸の変異で HOIL-1L のリガーゼ活性が消失することがあること、リガーゼ活性が低下する HOIL-1L が 1 遺伝子座あるだけでマウスにおいて自己免疫疾患類似症状を呈することを発見していたので、ヒトでも HOIL-1L の 1 アミノ酸変異が SLE や SS の発症に寄与する可能性を想定して、HOIL-1L/RBCK1 遺伝子の 1 塩基多型/変異 (SNP/SNV) を検索した。その結果 HOIL-1L R464H 変異を惹起する SNV (rs774507518) が、HOIL-1L のリガーゼ活性が低下させることで LUBAC の機能を亢進させることを見出した。さらに重要なことに、HOIL-1L R464H 変異を惹起する SNV (rs774507518) が SLE 患者群に有意に集積することを見出し、HOIL-1L/RBCK1 が SLE の新規疾患感受性遺伝子であること、LUBAC の機能亢進がヒト SLE の発症に寄与することを世界で初めて示した (図 4)。

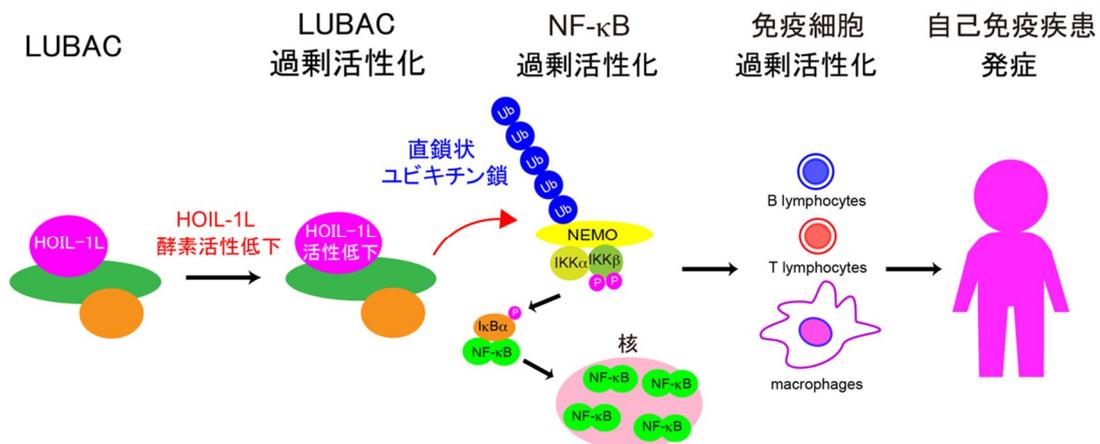


図 4

引用文献

(1) Fuseya Y et. al. The HOIL-1L ligase modulates immune signalling and cell death via monoubiquitination of LUBAC. Nat Cell Biol. 2020;22(6):663-73.

(2) Fuseya Y et. al. Attenuation of HOIL-1L ligase activity promotes systemic autoimmune disorders by augmenting linear ubiquitin signaling. JCI Insight 2024 Feb 8;9(3): e171108.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shinkawa Yutaka, Imami Koshi, Fuseya Yasuhiro, Sasaki Katsuhiro, Ohmura Koichiro, Ishihama Yasushi, Morinobu Akio, Iwai Kazuhiro	4. 巻 596
2. 論文標題 ABIN1 is a signal induced autophagy receptor that attenuates NF B activation by recognizing linear ubiquitin chains	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 1147 ~ 1164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.14323	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuhiro Fuseya, Keiichiro Kadoba, Xiaoxi Liu, Hiroyuki Suetsugu, Takeshi Iwasaki, Koichiro Ohmura, Takayuki Sumida, Yuta Kochi, Akio Morinobu, Chikashi Terao, Kazuhiro Iwai	4. 巻 9 (3)
2. 論文標題 Attenuation of H0IL-1L ligase activity promotes systemic autoimmune disorders by augmenting linear ubiquitin signaling	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.171108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mitra Sharmistha, Chen Baozhi, Shelton John M., Nitschke Silvia, Wu Jun, Covington Lindsay, Dear Mathew, Lynn Tori, Verma Mayank, Nitschke Felix, Fuseya Yasuhiro, Iwai Kazuhiro, Evers Bret M., Minassian Berge A.	4. 巻 147
2. 論文標題 Myofiber-type-dependent 'boulder' or 'multitudinous pebble' formations across distinct amylopectinoses	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-024-02698-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伏屋康寛
2. 発表標題 直鎖状ユビキチン鎖と自己免疫疾患
3. 学会等名 第13回シグナルネットワーク研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伏屋康寛
2. 発表標題 Linear ubiquitin chains and autoimmune diseases.
3. 学会等名 Cell Biology, Developmental Biology, and Systems Biology Course Meeting 2023
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 伏屋康寛	4. 発行年 2023年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 6
3. 書名 炎症と免疫	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------