PYNOD, a novel Apaf-1/CED4-like protein is an inhibitor of ASC and caspase-1

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15871

学位授与番号	甲第 1634 号
学位授与年月日	平成 16 年 6 月 30 日
氏名	王 冶陶
学位論文題目	PYNOD, a Novel Apaf-1/CED4-like Protein is an Inhibitor of ASC and Caspase-1 (新規 Apaf-1 様遺伝子 PYNOD のクローニングと機能解析)
論文審査委員	主査 教授 向田直史 副査 教授 山本 博 教授 山本健一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

ヒトゲノム配列との相同配列解析から、アポトーシス誘導性細胞内因子 Apaf-1 と類似の蛋白をコードする遺伝子が多数発見されている。このファミリーに属する NOD1 や NOD2 は自然免疫系の病原体認識の一端を担う細胞内受容体であり、CARD12 や PYPAF1, 5, 7 は ASC と呼ばれる分子を介してアポトーシスを誘導し、NF-κB や IL-1βを活性化することから、このファミリーに属する分子は自然免疫系の活性化に係わる可能性が高い。さらに、NOD2 や PYPAF1/cryopyrin の機能亢進型突然変異は、それぞれ Blau syndrome および cold-induced autoinflammatory syndrome という遺伝性炎症性疾患の原因となる。また、NOD2 の機能低下型変異は Crohn 病の素因となる。ヒトゲノムデータベースの解析から新しい Apaf-1 様分子、PYNOD の遺伝子を発見し、様々な組織・細胞における PYNOD の発現を検討するとともに、PYNOD 遺伝子を HEK293 細胞に一過性に発現させ、その機能を検討し、以下の結果を得た。

1. ヒト PYNOD mRNA は種々の組織に広汎に発現し、脳、心臓、骨格筋で高い発現を示した。また、RT-PCR 法で解析したところ、調べた全ての細胞株に PYNOD mRNA の発現が認められた。
2. CARD12 や PYPAF1、5、7 は ASC を介してアポトーシスと NF-κB の活性化を誘導したが、PYNOD は逆にこれらの反応を抑制した。デス因子受容体 Fas やアポトーシス誘導性 Bcl-2 ファミリー分子である Bid の一過性発現によるアポトーシスは阻害しなかった。また、MEKK や MyD88、TNF-αによる NF-κB の活性化は抑制しなかった。これらの結果から PYNOD は ASC によるアポトーシスと NF-κB 活性化を選択的に阻害することが明らかになった。
3. CARD12 は直接、また PYPAF1、5、7 は ASC を介して Caspase-1 を活性化し、IL-1βの活性化を誘導したが、PYNOD は逆に Caspase-1 による IL-1βの分泌を抑制した。
4. PYNOD と様々な分子を HEK293T 細胞に一過性に発現させ、免疫沈降-ウエスタンブロティング法で分子間相互作用を検討したところ、PYNOD は自己多量体化すること、ASC、Caspase-1、IL-1βと会合することが判明した。一方、RIP、TRADD、IKKγ、Bid との結合は検出されなかった。

これらの結果から、PYNOD は ASC や Caspase-1 の活性を抑制し、アポトーシスおよび炎症反応のシグナル伝達を抑制する細胞内因子であることが示唆された。

以上、本研究は炎症・免疫応答の制御機構の一端の解明とともに、多くの遺伝性炎症性疾患とも関連する Apaf-1 様分子群の制御法開発にも寄与しうる、価値ある研究と評価された。