

# B細胞リンパ腫発症機構の一端を解明

徳永文稔（群馬大学生体調節研究所教授）と濡木理（東京大学大学院理学研究科教授）の研究グループは、B細胞リンパ腫発症に至る分子機構の一端を解明しました。NF- $\kappa$ Bは細菌やウイルス、炎症性サイトカイン、紫外線など多様なストレスに応答し、炎症や免疫制御において中心的な役割を果たす転写因子です。NF- $\kappa$ Bの活性化には直鎖状ユビキチン鎖という特殊なタイプのユビキチン鎖が関与します。今回、NF- $\kappa$ B経路のブレーキ役として知られているA20タンパク質が7番目のジンク（亜鉛）フィンガー領域（A20-ZF7）を介して直鎖状ユビキチン鎖に特異的に結合することでNF- $\kappa$ B経路を制御していることを発見しました。さらに、A20-ZF7による直鎖状ユビキチン鎖認識の分子メカニズムをX線結晶構造解析によって明らかにしました。A20の遺伝性変異はB細胞リンパ腫を引き起こし、その遺伝子多型は関節リウマチなど自己免疫疾患に関連することが知られています。本研究により、非ホジキンリンパ腫を起こすA20-ZF7の遺伝子変異によって、直鎖状ユビキチン鎖への結合やTNF（腫瘍壊死因子）受容体への会合が低下し、その結果、NF- $\kappa$ Bの過剰活性化ががんを引き起こしている可能性が示唆されました。今回の研究成果は、B細胞リンパ腫発症の分子メカニズムの一端を解明したもので、今後抗がん剤や自己免疫疾患に対する治療薬創薬の標的としても重要な発見です。本研究成果は、欧州の学術誌EMBO Journal（エンボジャーナル）の電子版として8月28日に掲載されました。

## 【研究内容】

### 背景

NF- $\kappa$ Bは1986年にDavid Baltimore（米国の生化学者、1975年度ノーベル生理学医学賞受賞者）らによって抗体生成に関与する転写因子として発見され、その後の研究から炎症応答や免疫制御、細胞の生存、がん細胞の接着・浸潤などに関与する多くの遺伝子発現を調節することが知られています。したがって、NF- $\kappa$ Bの調節異常は多くのがん、クローン病など慢性炎症疾患、関節リウマチ、乾癬など自己免疫疾患、糖尿病など生活習慣病に密接に関与することが明らかになっています。NF- $\kappa$ Bは通常、細胞質（サイトゾル）に存在しますが、細胞がストレスに曝されると核内へ移行し、標的遺伝子の発現を誘導します。この過程でユビキチン化などの翻訳後修飾が重要な役割を果たします。

ユビキチンは真核生物に高度に保存された球状タンパク質で、不要タンパク質や老廃タンパク質を分解に導く標識としてAvram Hershko（イスラエルの生化学者、2004年度ノーベル化学賞受賞）らによって発見されました。その後の研究により、ユビキチンは数珠状に連結して多様なポリユビキチン鎖を形成し、タンパク質分解のみならず、DNA修復、シグナル伝達、細胞内輸送など多彩な生理

機能発現を制御していることが明らかにされています。

これまで見いだされていた 7 種のポリユビキチン鎖はすべて分岐鎖状ユビキチン鎖(近位ユビキチンの Lys 残基と遠位ユビキチンの C 末端が連結したユビキチン鎖)でしたが、2006 年に岩井と徳永らによって直鎖状ポリユビキチン鎖(近位ユビキチンの N 末端と遠位ユビキチンの C 末端が連結したユビキチン鎖)を生成する酵素(LUBAC と命名)が発見されました。その後、徳永らを中心に、LUBAC が直鎖状ポリユビキチン鎖を生成することで NF- $\kappa$ B 経路の活性化を引き起こしていることが明らかにされてきました(図 1)。しかし、LUBAC によって活性化される NF- $\kappa$ B 経路の抑制メカニズムは不明でした。

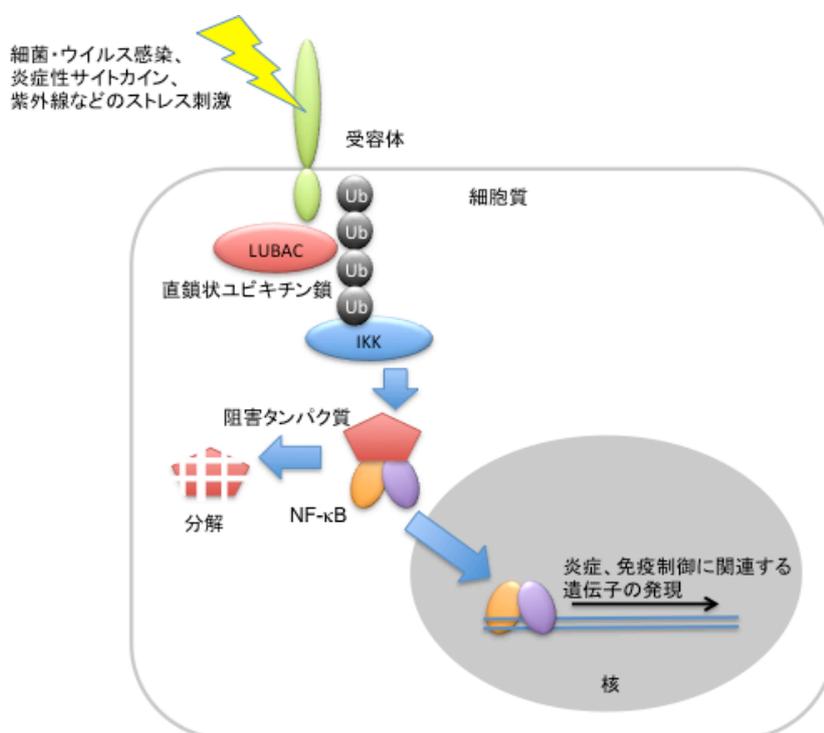


図1 LUBACによる直鎖状ユビキチン鎖生成を介したNF- $\kappa$ B経路の活性化機構

各種刺激を受容体が感知すると細胞質領域でLUBACが活性化し、直鎖状ユビキチン鎖を生成し、I $\kappa$ Bキナーゼ(IKK)を活性化する。活性化したIKKはNF- $\kappa$ Bの阻害タンパク質を分解に導き、フリーになったNF- $\kappa$ Bは核内へ移行して遺伝子の発現を亢進する。

## 今回の発見

今回、LUBAC 活性にブレーキを掛ける候補タンパク質として、ユビキチン分解酵素(脱ユビキチン化酵素)の影響を調べたところ、A20 と CYLD が LUBAC による NF- $\kappa$ B 活性化を抑制することがわかりました。CYLD は直鎖状ユビキチン鎖を分解することで LUBAC による NF- $\kappa$ B 活性化を抑制した一方で、A20 は直鎖状ユビキチン鎖を分解できないにもかかわらず NF- $\kappa$ B 活性を強く抑制することを見いだしました。A20 はユビキチン分解酵素領域と 7 つのジンクフィンガーからなるタンパク質です。そこで、NF- $\kappa$ B 抑制に重要な A20 の領域を解析したところ、7 番目のジンクフィンガー(A20-ZF7)が NF- $\kappa$ B 抑制に重要であることがわかりまし

た。興味深いことに、A20-ZF7 は分岐鎖状ユビキチン鎖には結合せず、直鎖状ユビキチン鎖に特異的に結合することがわかりました。さらに、X線結晶構造解析により、A20-ZF7 が直鎖状ユビキチン鎖中の2つのユビキチン（遠位ユビキチンと近位ユビキチン）を同時に認識することで、直鎖状ユビキチン鎖に特異的に結合していることを明らかにしました（図2）。

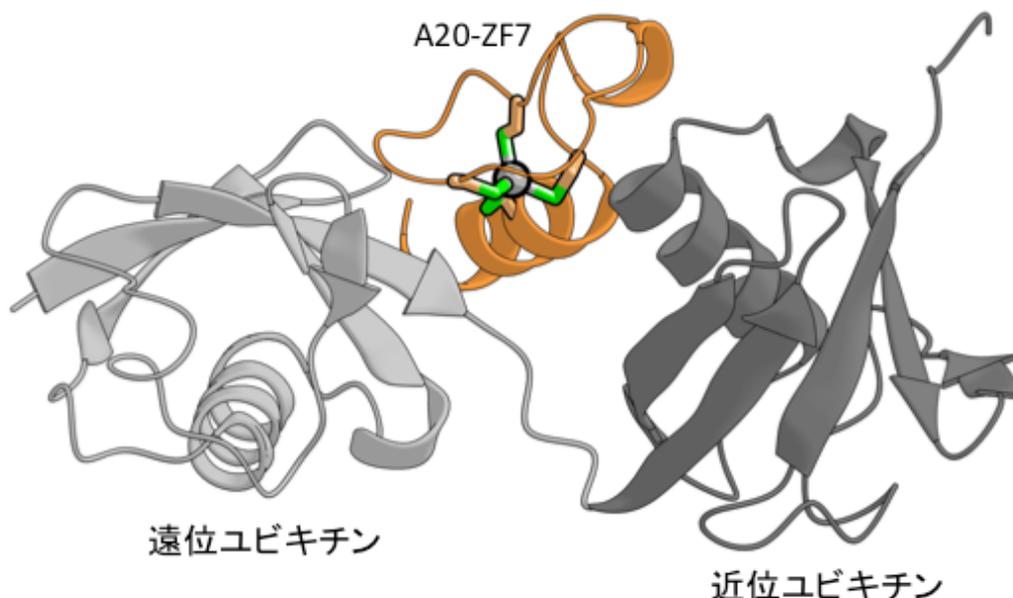


図2 A20-ZF7と直鎖状ユビキチン鎖との共結晶構造  
A20-ZF7は直鎖状に結合した遠位ユビキチンと近位ユビキチンの両方を同時に認識して結合する。

A20 の遺伝性変異は B 細胞リンパ腫を引き起こし、その遺伝子多型は関節リウマチ、全身性エリテマトーデス (SLE)、乾癬、糖尿病など多くの病態に関連することが知られています。特に、A20-ZF7 の欠損やアミノ酸変異 (N772K 変異と E781D 変異) が起こると B 細胞リンパ腫 (ホジキン・非ホジキンリンパ腫) を惹起することが知られていましたが、その分子メカニズムは不明でした。注目すべきことに、今回決定した結晶構造中で A20-ZF7 の N772 と E781 はともにユビキチン結合に関与しており、実際に、A20-ZF7 の N772K/E781D 変異体は直鎖状ユビキチン鎖との結合が減弱し、炎症刺激を感知し NF- $\kappa$ B 活性化を発信する TNF 受容体への A20 の刺激依存的会合が低下することを見いだしました。NF- $\kappa$ B が活性化するとブレーキタンパク質である A20 が生成され、TNF 受容体へと集積することで、適切なタイミングで NF- $\kappa$ B 活性化を抑制することが知られていました。今回の結果から、A20-ZF7 の欠損や変異により直鎖状ユビキチン鎖への結合が減弱すると A20 の TNF 受容体への集積が不全となり、ブレーキの掛からない持続的な NF- $\kappa$ B 活性化状態が生じることが病態発現につながることを示唆されました（図3）。

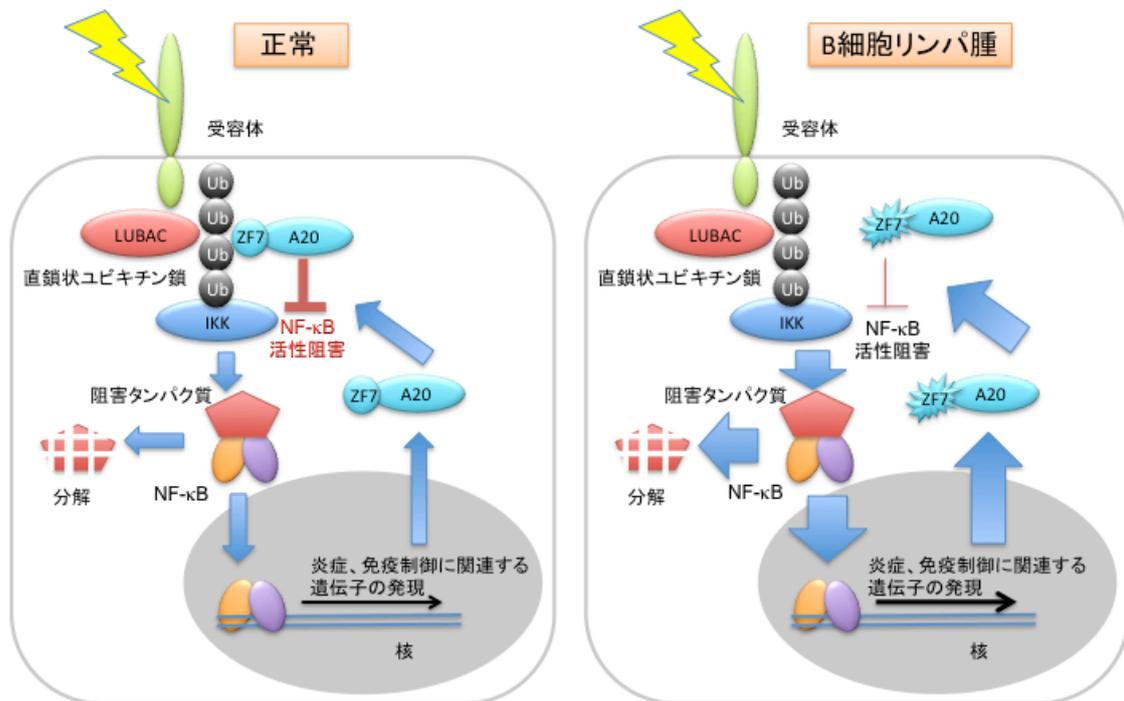


図3 A20による直鎖状ユビキチン鎖結合を介したNF-κB抑制機構とB細胞リンパ腫との関連  
 正常時はNF-κB活性するとA20が発現され、ZF7を介して直鎖状ユビキチン鎖に結合することで、適切なタイミングでNF-κB経路を抑制する。一方、ZF7に異常があると直鎖状ユビキチン鎖に結合できず、NF-κB活性にブレーキが掛からない。このため、持続的なNF-κB活性亢進状態になり、発がんに至ると考えられる。

### 意義

B細胞リンパ腫は血液のがん、悪性リンパ腫の一種でホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫に大別され、日本では非ホジキンリンパ腫が多数を占めます。治療には4つの薬剤を併用する化学療法(CHOP療法)や分子標的薬リツキシマブ(ヒト化抗CD20抗体)が用いられていますが、今なお治療困難なケースが多々見られます。B細胞リンパ腫の遺伝性発症原因としてはA20のほかCARD11、ABIN-1/2などの遺伝子変異が知られていますが、いずれもNF-κB経路の制御に関与するタンパク質をコードしています。

今回の研究から、B細胞リンパ腫の発症機構にA20-ZF7の直鎖状ユビキチン鎖への結合が関与するという新たな知見が得られ、発症メカニズムの一端が解明されました。直鎖状ユビキチン鎖はNF-κB活性化の足場として重要ですが、ブレーキタンパク質であるA20が集積する足場としても極めて重要であることが明らかになりました。したがって、直鎖状ユビキチン鎖を標的する薬剤はNF-κB活性の特異的制御を導くことが期待され、抗がん剤、自己免疫疾患治療薬の創薬シーズとして有効であると考えられます。

本研究は、日本学術振興会最先端研究支援プログラム(研究代表者: 濡木理)、独立行政法人科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業チーム型研究

(CREST)「慢性炎症による疾患発症機構の構造基盤」(研究代表者：濡木理、研究分担者：徳永文稔、平成 23-28 年度)、文部科学省ターゲットタンパク研究プログラム(研究代表者：濡木理、研究代表者：岩井一宏)、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「修飾シグナル病」(計画研究者：徳永文稔、計画研究者：石谷隆一郎、平成 22-26 年度)、上原生命科学財団研究助成金(受領者：徳永文稔)の支援を受けて行われたものです。

#### 【用語説明】

転写因子：遺伝子の特定配列に結合して DNA 配列からメッセンジャーRNA (mRNA) への転写を促進するタンパク質。

ジンクフィンガー：亜鉛(ジンク)イオンを含むタンパク質ドメインの一つで、DNA 結合やタンパク質結合など多様な生理機能をもつ。亜鉛イオンはシステイン残基などと結合し構造安定化に寄与する。

TNF 受容体：炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ (腫瘍壊死因子)に応答するセンサータンパク質(受容体)で、NF- $\kappa$ B シグナルや細胞死(アポトーシス)の調節を行う。

#### 【論文題目】

Specific recognition of linear polyubiquitin by A20 zinc finger 7 is involved in NF- $\kappa$ B regulation

「A20 ジンクフィンガー7による直鎖状ポリユビキチンの特異的認識はNF- $\kappa$ B 制御に寄与する」

掲載予定誌：EMBO Journal 誌面掲載予定日未確定

#### 【問い合わせ先】

群馬大学生体調節研究所分子細胞制御分野

教授 徳永 文稔

Tel: 027-220-8865

E-mail: [ftokunaga@gunma-u.ac.jp](mailto:ftokunaga@gunma-u.ac.jp)

東京大学大学院理学研究科生物化学専攻

教授 濡木 理

Tel: 03-5841-4392

E-mail: [nureki@biochem.s.u-tokyo.ac.jp](mailto:nureki@biochem.s.u-tokyo.ac.jp)