



The optineurin oligomer: its existence as a major form in cells and cross-linking upon oxidative stimuli through ubiquitin binding domain

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-04-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高, 潔 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2702

博士(医学) 高 潔

論文題目

The optineurin oligomer: its existence as a major form in cells and cross-linking upon oxidative stimuli through ubiquitin binding domain

(オプチニューリンオリゴマー:細胞内での主要な形態としての存在および酸化刺激下でのユビキチン結合ドメインを介した架橋結合)

論文審査の結果の要旨

オプチニューリン遺伝子 (*OPTN*) は、原発性開放隅角緑内障の原因遺伝子として同定された。*OPTN* 蛋白 (66 kDa) は、細胞内でオリゴマーを形成することを示唆されているが、詳細な検討はなされていなかった。そこで、本研究では、*OPTN* オリゴマーの存在の検証・追究と、それに対する酸化ストレス等の環境刺激、及び *OPTN* の変異の影響について解析を行った。

正常及び変異 *OPTN* 発現プラスミドを培養細胞に導入した。次に、非刺激あるいは H_2O_2 処理後、blue native 電気泳動 (BNE) で非変性状態の、SDS-PAGE で変性状態の *OPTN* タンパク質を分離し、ウェスタンブロット法により検出した。また、細胞を接着培養状態のまま固定し *in situ* PLA 法を施行した。また、培養細胞に、正常及び変異 *OPTN* を導入し、 $TNF\alpha$ が誘導する NF- κ B 活性を測定した。

BNE での解析の結果、*OPTN* は、400 kDa 前後の高分子量複合体に存在することがわかった。また、*in situ* PLA 法で解析した結果、*OPTN* は細胞質内でオリゴマーを形成することが明らかになった。 H_2O_2 処理や、変異体で形成される共有結合を伴った複合体の分子量は単量体の 3 倍を示したので、架橋結合 *OPTN* 3 量体 (*cOPTN*₃) と命名した。E50K 導入細胞では H_2O_2 処理を行わなくても *cOPTN*₃ が形成されたこと、そしてその形成が抗酸化剤により抑制されたことから、*cOPTN*₃ が、細胞毒性を呈する可能性が考えられる。

以上の実験結果より、*OPTN* は細胞内で高分子複合体として存在することが明らかになり、*cOPTN*₃ の細胞毒性により、緑内障が発症する可能性が示された。

審査委員会では、*OPTN* が細胞内で高分子複合体として存在することを世界ではじめて証明したこと、また、この現象が緑内障の発症の一因となる可能性を示した点を高く評価した。以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 佐藤 康二

副査 前川 真人 副査 宮嶋 裕明