

論文内容の要旨

申請者氏名 末吉 拓也

自然免疫細胞はウイルスや細菌といった病原体の感染を Toll-like receptors、NOD-like receptors、RIG-I-like receptors (RLR) といったパターン認識受容体により察知する。これらの中で RIG-I や MDA5 から成る RLRs は細胞内へと侵入してきたウイルスの RNA を認識する。RLRs がウイルスの核酸を認識すると、下流のアダプター分子 IPS-1 を介して最終的に転写因子 IRF3 と NF- κ B のリン酸化を促し、I 型インターフェロン (IFN) や炎症性サイトカインの産生を誘導する。I 型 IFN は抗ウイルス性遺伝子群の発現を促すことで、ウイルス感染細胞や周辺細胞の抗ウイルス状態を成立させる。本研究室では、I 型 IFN のひとつである IFN- β の発現を指標とした発現スクリーニングを行い、RNA 結合タンパク質である Hu antigen R (HuR、または elavl1) を見出していた。HuR は 3 つの RNA 認識モチーフを有する RNA 結合タンパク質であり、主に標的 mRNA の 3' 非翻訳領域に結合することで mRNA の安定性の維持に寄与することが知られているが、ウイルスに対する自然免疫応答における機能は明らかとなっていない。本研究は、HuR のウイルスに対する自然免疫における機能の解明を目指した。そのため、HuR を欠損するマクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞を樹立した。この細胞を RLRs のリガンドである人工二本鎖 RNA の poly(I:C) や RNA ウイルスであるニューカッスル病ウイルスを感染させるなどして刺激したところ、HuR 欠損細胞で IFN- β や IFN 誘導性遺伝子である CXCL10 の産生量が減少していた。さらに、マイクロアレイ解析を行ったところ、HuR 欠損細胞においては Polo-like kinase 2 (PLK2) の発現量が減少していた。PLK2 は転写因子 IRF3 の核移行を制御することで、抗ウイルス応答に関与することが示唆されていた。そこで、この PLK2 に着目し解析を進めたところ、PLK ファミリーの阻害剤を投与した細胞や新たに樹立した PLK2 欠損 RAW264.7 細胞においては poly(I:C) により誘導される IFN- β や CXCL10 発現の抑制が見られた。また、ウエスタンブロットや免疫染色の結果から、HuR 欠損細胞においては、転写因子の IRF3 の核への移行が抑制されていることが分かった。さらに、RNP-IP や転写阻害剤を用いた実験の結果から、HuR は Plk2 mRNA の 3'-UTR と結合し、その安定性の維持に寄与していることが示された。

これらの結果から、RNA 結合タンパク質 HuR は Plk2 mRNA の安定性を調節することを介して、RNA ウイルスに対する自然免疫応答の制御に関与していることが考えられた。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 末吉 拓也

ウイルスが細胞に感染すると、その複製産物である RNA が RNA ヘリカーゼである RIG-I や MDA5 により認識される。その後、一連の細胞内シグナル伝達経路を経て、抗ウイルス応答において中心的な役割を果たす I 型インターフェロン (IFN) や炎症性サイトカインの産生が誘導され、最終的にウイルスが排除される。申請者は、ウイルス感染により誘導される I 型インターフェロンの発現機構について研究を行った。

申請者の所属研究室では、I 型 IFN の一種 IFN- β 遺伝子のプロモーターにより制御されるレポーターを用いた発現スクリーニングにより、RNA 結合タンパク質 HuR (ELAVL1) を既に得ていた。申請者はこの HuR に着目し、これを欠損するマクロファージ細胞株をゲノム編集により樹立し解析を行った。その結果、下記のことが明らかとなった。

- 1) HuR 欠損細胞において、RIG-I や MDA5 経路を活性化するウイルス RNA 刺激に伴い誘導される IFN- β やケモカイン CXCL10 の発現が減少している。
- 2) HuR 欠損細胞では、IFN- β や CXCL10 遺伝子の転写調節因子 IRF3 の活性化 (核内移行) が障害されている。
- 3) HuR 欠損細胞ではリン酸化酵素 Polo-like kinase 2 (PLK2) の発現が顕著に低下している。
- 4) 新たに樹立した PLK2 欠損細胞では、ウイルス RNA 刺激後の IRF3 の核内移行や IFN β の発現が減少している。
- 5) HuR は PLK2 mRNA の 3'-UTR と結合し、その安定性を向上させる活性を有している。

これらの結果は、HuR が PLK2 mRNA の安定性を制御することで、RIG-I/MDA5 を介した IRF3 の核内移行とそれに伴う IFN- β による抗ウイルス応答誘導に寄与することを強く示唆するものであり、mRNA 安定性制御が抗ウイルス自然免疫応答に関わるという新たな制御モデルを提唱したという点で高く評価される。さらに、HuR や PLK2 がウイルスに対する免疫賦活化剤の開発や、過剰な IFN β 産生が原因とされる自己免疫疾患の発症機序理解や治療薬開発の新たな標的となり得ることが期待される。

以上のように、本論文はウイルスに対する生体防御応答に HuR を介した mRNA 安定性制御が寄与していることを見いだしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。