

論文内容の要旨

申請者氏名 Mohd Izwan Bin Zainol

自然免疫細胞は、Toll-Like Receptors (TLRs) などのパターン認識受容体を介して病原体構成成分を認識し、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ことで病原体に対する免疫応答を惹起する。TLRファミリーはおよそ10のメンバーから構成されるが、それらの中でエンドソームに局在するTLR3はウイルス由来の二重鎖RNAを認識する受容体である。また、最近の研究からRNA結合タンパク質による転写後調節がTLRを介して誘導されるサイトカイン遺伝子の発現、維持、抑制に重要な役割を果たしていることが報告されている。本研究ではRNA結合タンパク質でありmRNA安定化に寄与することが知られているHuman antigen R (HuR; 別名Elavl1)に着目し解析を行い、TLR3を介する自然免疫応答における役割の理解を目指した。まず、HuRを欠損するマクロファージ細胞株RAW264.7細胞ではTLR3の合成リガンドであるPoly (I:C)刺激に対するI型IFN遺伝子の発現が顕著に減少していることを見出した。さらに、TLR3下流に位置し、I型IFN遺伝子の発現を制御する転写因子IRF3のリン酸化も減少していたことから、HuRはTLR3を介する自然免疫応答に関与する分子のmRNAの安定化に寄与していることが示唆された。そこで、HuR欠損細胞と野生型細胞で発現に差が認められる遺伝子を網羅的に調べたところ、HuR欠損細胞でエンドソーム内pH制御を担うV型ATPaseの構成分子の一つAtp6V0D2の発現が顕著に減少していた。Atp6V0D2を欠損するRAW264.7細胞を用いて解析したところ、HuR欠損細胞ではTLR3を介するI型IFN遺伝子の発現が減少していた。TLR3はエンドソーム内の酸性環境下で活性化型となることが知られていることから、Atp6V0D2欠損により生じた酸性化の障害がTLR3に対する応答低下の原因と考えられた。さらに、HuR欠損細胞でも酸性化が障害されていたことから、HuR欠損細胞におけるTLR3応答の低下はAtp6V0D2発現低下に起因するエンドソーム酸性化の異常によるものと推測された。また、HuRがAtp6V0D2 mRNAの3'UTRと結合し、安定化を増強させることもin vitroの実験により確認を行った。最後に、HuR欠損細胞にAtp6V0D2を強制発現させるとTLR3を介するI型IFN遺伝子発現が部分的に回復したことが確認された。以上のことから、HuRはAtp6V0D2 mRNAの安定性を調節することで、エンドソーム内のpHを酸性に保ち、TLR3を介する自然免疫応答の制御に関与していることが示唆された。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Mohd Izwan Bin Zainol

転写後調節機構は病原体に対する自然免疫応答惹起において重要な役割を果たすことが明らかにされつつある。本研究において、申請者は標的 mRNA の 3'UTR に存在する AU リッチ領域に結合し安定化に寄与することが知られている RNA 結合分子 Human antigen R (HuR、別名 Elavl1)に着目し、自然免疫制御における役割について解析を行った。HuR を欠損するマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞を用いて自然免疫応答を調べたところ、ウイルス RNA を認識する Toll-Like Receptor (TLR) 3 を介するサイトカイン遺伝子発現が減弱しており、TLR3 を介するシグナル伝達分子である IRF3 の活性化も減弱している知見を見出した。さらに、申請者はその背景に存在する分子機構の詳細を明らかにすることを目指し、HuR 欠損細胞で発現が減弱している遺伝子の中から、エンドソームの酸性化維持に必須の役割を果たすことが知られる V 型 ATPase のサブユニットの一つ Atp6V0D2 遺伝子を抽出し解析を行った。その結果、Atp6V0D2 欠損細胞においても TLR3 を介する自然免疫応答が減弱していることを見出した。これまでの研究から、TLR3 はエンドソームに局在しており、その活性化には酸性化が重要であることが示唆されてきた。申請者はさらに Atp6V0D2 欠損細胞と同様に HuR 欠損細胞においてもエンドソームの酸性化が障害されていることを見出し、HuR が Atp6V0D2 mRNA の安定化を制御することでエンドソームの酸性化維持に寄与していることを示唆した。申請者はさらに解析を加え HuR が Atp6V0D2 mRNA の 3'UTR と結合し、安定化を増強させることも証明した。

これまで、エンドソーム内の酸性化が TLR3 を介する抗ウイルス応答に必要なことは示唆されていたものの、その分子機構は不明な点が多かったが、本研究により HuR による Atp6V0D2 の安定化が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。これは、ウイルスに対する自然免疫応答の転写後調節機構の重要性を明らかにした点で価値がある。

以上のように、本論文は適切な自然免疫応答における転写後調節機構の重要性の一部を明らかにしたもので、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。

やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】