

[別紙1]

論文内容の要旨

論文題目 自然免疫系におけるI型インターフェロン遺伝子活性化機構の解析

指導教官 谷口 維紹

東京大学大学院医学系研究科

平成10年4月入学

医学博士課程 病因病理学専攻

氏名 朝霧 成挙

インターフェロン (IFN)は、ウイルスの干渉現象 (interference) に関する研究から発見された。なかでも IFN- α/β (I型 IFN)は、ウイルス感染時に一過性に産生されて初期の免疫応答を司り、自然免疫系において重要な役割を持つ。IFN- β 遺伝子のプロモーターには PRD I、PRD II、PRD IIIおよび PRD IVと名付けられたエンハンサーが同定されており、PRD IIには NF- κ B が、PRD IVには ATF-2/c-Jun が結合する。また PRD I と PRD IIIには IFN regulatory factor (IRF) と呼ばれる転写因子群が結合する。現在までに9種の IRF が同定されており、このうち I型 IFN の転写誘導に関係深いのは IRF-1、IRF-3、IRF-7 および IRF-9 の4種である。特に IRF-3 と IRF-7 は、ウイルス感染に呼応して形成される virus-activated factor と呼ばれる複合体中に見いだされることから、ウイルス感染時の IFN 産生における役割が注目されていた。そこで本研究では、I型 IFN 遺伝子活性化機構における IRF-3 と IRF-7 の役割を解明するために、両因子の欠損マウスの作成と解析を行って、下記の結果を得た。

- (1) IRF-3 欠損 マウスの EMCV 感染における平均生存日数は野生型を大きく下まわった。
- (2) IRF-3 欠損マウスの胎仔線維芽細胞(MEF) を用いた解析から、ウイルス感染時の IFN 産生量は野生型と比較して約20分の1に著減した。この時 IFN- α mRNA の発現パターンを調べると、IFN- $\alpha 4$ の全体に占める割合が低く通常とは異なっていた。
- (3) 蛋白合成阻害剤を培養液中に添加したのちにウイルス感染を行うと、IFN の産生は検出限界以下となった。しかし IFN 前処理した後に蛋白合成阻害剤を添加した場合には通常の見現レベルに回復した。このことから IRF-3 欠損 MEF にて観察される少量の IFN 産生誘導には、蛋白合成を伴う IFN シグナリングが重要であることが強く示唆された。
- (4) また、IRF-3 と IFN シグナル伝達に重要な因子 IRF-9 を両方欠損するマウス(DKO) を作製したところ、MEF と脾臓リンパ細胞の両者において、ウイルス感染による IFN の誘導は全く観察されなかった。
- (5) レトロウイルス発現ベクターを用いて DKO MEF に IRF ファミリー転写

因子を再構築したところ、IRF-3 強制発現細胞では IFN- β の発現のみ回復がみられた。一方 IRF-7 強制発現細胞では IFN- α/β 両者の発現回復が見られたが、IFN- α mRNA の発現様式は IRF-3 を欠損した場合と同様の異常を示した。この発現様式の異常は、IRF-3 と IRF-7 を共に発現することで解消された。以上のことから、IRF-3 と IRF-7 が IFN の誘導性に関して代償不可能な機能を持つことが示された。

(6) IFN プロモーター下流にルシフェラーゼ 遺伝子を連結させたレポーター遺伝子を用いたトランジェントアッセイから IRF-3 と IRF-7 が協調的に働くことが明らかとなった。

(7) IRF-7 欠損細胞の解析から、IRF-7 がウイルス感染時の IFN- α 遺伝子群の活性化に必須の因子であることが明らかとなった。

以上の結果を通して本研究は、(a) IRF-3 と IRF-7 は、ウイルス感染時に I 型 IFN 遺伝子を活性化する直接的かつ必須の因子であること。(b) この時 IRF-3 と IRF-7 が IFN 誘導性に関してお互いに代償不可能な役割を担っており、協調的に機能していること。具体的には、IRF-3 は IRF-7 と共に IFN- β の発現を担うが、IFN- α の誘導量に及ぼす影響はほとんど認められない。しかし、複数種存在する IFN- α 遺伝子の発現様式を制御している。一方、IRF-7 は IFN- α/β 両方を効果的に誘導するが IFN- α 遺伝子の発現制御に関して特異性がないとすることができる。また、(c) IRF-3 は IRF-7 はお互いに単独でも転写活性化因子として機能し得ることを明らかとした。