

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 朝霧 成挙

本研究は、I型インターフェロン (IFN) 遺伝子活性化機構における、IFN regulatory factor (IRF)-3 と IRF-7 の役割を、両因子の欠損マウスの作成と解析を通して検討したものであり、下記の結果を得ている。

(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。

以上の結果より、(1) IRF-3 と IRF-7 は、ウイルス感染時に I 型 IFN 遺伝子の活性化を制御する因子として直接的かつ必須の役割を果たしていること、(2) この時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 (3) お互いに単独でも機能し得る事が明らかになった。これまでに、9 種の分子が IRF ファミリーとして同定されているが、これら因子の発現様式や活性化機構はそれぞれに異なり、いずれの因子が I 型 IFN 遺伝子を制御するのか解明されな
いまま 10 年以上混沌としていた。本研究は、このような状況を打破するものであり、学位の授与に値すると考えられる。