

氏名 佐藤 浩二郎

本研究は、TNFファミリーリガンドに属するTNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)の、I型インターフェロン(IFN)による誘導メカニズムと、その誘導の生理的な役割を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. I型IFNの強力な誘導物質であるpoly I-Cをマウスに腹腔内投与することにより、マウスのNK細胞及びT細胞の表面に、TRAILが誘導された。特にNK細胞においては、poly I-Cを投与しない場合にはTRAIL依存性の細胞傷害活性が認められないが、投与した場合にはTRAIL依存性の細胞傷害活性が認められた。一方、パーフォリン依存性の細胞傷害活性は、poly I-C非投与群においても検出された。
2. *in vitro*でも、I型IFNを加えて培養した場合には用量依存性にNK細胞上にTRAILが誘導された。
3. I型IFN受容体の欠損マウス及び、I型IFNのシグナル伝達に重要な転写因子であるIRF-9の欠損マウスではpoly I-C刺激に対するTRAILの誘導が認められなかった。またこの誘導は、mRNAレベルで制御されていることをRT-PCR法によって確認した。
4. 上記のメカニズムを明らかにするためにマウスTRAILのプロモーター部位をクローニングした。すると転写開始点より約50bp上流に、IRF-9が転写因子複合体interferon stimulated gene factor 3 (ISGF3)の形で結合する際に重要な配列であるinterferon stimulated response element (ISRE)が存在することが判明した。この部位に確かにISGF3が結合することをゲルシフトアッセイによって確認した。また、このプロモーター部位を用いたルシフェレース・アッセイによって、このプロモーターが確かにI型IFNによって正に制御されていること、及びこの制御がIRF-9の欠損細胞では認められないことを確認した。

即ち、I型IFNの刺激によって転写因子複合体ISGF3が形成され、ISGF3がTRAILプロモーター上のISRE配列に結合することがTRAILの誘導のメカニズムであると考えられた。

5. TRAILは主として腫瘍細胞に対して細胞傷害性を発揮するとされているが、マウス胎児線維芽細胞をターゲットとし、TRAIL強制発現細胞をエフェクターに用いたクロムリリリースアッセイにおいて、ターゲットがウイルス(encephalomyocarditis virus, EMCV)に感染している場合にはTRAIL依存性に細胞傷害を受けることを示した。

6. マウスのEMCV感染実験において、抗TRAIL抗体を投与したマウスでは対照群に比べて生存期間が有意に短縮していた。また、第3病日における心臓でのウイルス力価を調べると、抗TRAIL抗体投与群では対照群の約10倍のウイルス力価を示した。抗アシアロGM1抗体を投与して生体内のNK細胞を消失させたマウスでも、対照群の約10倍のウイルス力価を示したが、抗アシアロGM1抗体と抗TRAIL抗体を併用した場合には、相加的な効果が認められず、このことからNK細胞上のTRAILがEMCV感染に対する防御に働いていることが示唆された。一方、パーフォリン欠損マウスや、T細胞を除去したマウスを用いた実験により、第3病日におけるEMCVに対する生体防御にはT細胞や、パーフォリンは関与していないことが示唆された。

以上、本論文は、TRAILがI型IFNにより誘導されるメカニズムを明らかにし、その生理的な役割について、NK細胞によるウイルス感染時の生体防御に寄与している可能性を示したものであり、従来言われてきた抗腫瘍作用とは異なる新たな側面からTRAILの機能を解析している。I型IFNがNK細胞を活性化し、抗ウイルス作用を増強することは古くから知られてきたが、そのメカニズムに関しては殆ど知られていなかった。本研究はその分子メカニズムの一端に迫るものであり、学位の授与に値すると考えられる。