別紙２

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名　　加野　真一

本研究は、Th1 分化誘導に必須のサイトカインである IL-12 のリガンドおよび受容体の発現制御において、IRF ファミリー転写因子の関与を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. *Irf-5* 遺伝子欠損マウス脾臓 $CD11c^+$細胞では、TLR9 リガンドである CpG-B 刺激に対する IL-12p70 の産生が著明に減少しており、IL-12p70 を構成している p40 および p35 両サブユニットの mRNA 量がいずれも大きく低下していた。IRF-5 は、CpG-B 刺激に応じて核移行し、レポーターアッセイにて、IRF-5 を TLR のシグナル伝達分子である MyD88 および TRAF6 と共発現させると、IRF 結合配列依存性の転写が活性化された。さらに、クロマチン免疫沈降法により、IRF-5 が、CpG-B 刺激に応じて、*Il-12p40* 遺伝子プロモーターの IRF 結合配列に結合することが示された。実際、*Irf-5* 遺伝子欠損マウス $CD4^+$T 細胞は、*in vivo* の抗原刺激に対し、顕著な IFN-γ産生の低下を示しており、IRF-5 による IL-12 の発現制御が、適応免疫応答において重要であることが示唆された。
2. *Irf-1* 遺伝子欠損マウスナイーブ $CD4^+$T 細胞を、IL-12 および抗 IL-4 中和抗体を用いて *in vitro* で Th1 分化させると、IFN-γ産生が大きく低下していた。*Irf-1* 遺伝子欠損マウス $CD4^+$T 細胞は、IL-12 シグナルの下流で活性化される転写因子 STAT4 の活性化が減弱しており、IL-12 受容体発現の低下をみとめた。特に、IL-12 受容体を構成するサブユニットのうち、β1 サブユニット (IL-12Rβ1) の発現が顕著に低下してお

り、IL-12 受容体発現を制御すると報告されている転写因子 T-bet をレトロウイルスベクターで導入しても、発現は回復しなかった。*Il-12rβ1* 遺伝子プロモーターには、IRF 結合配列が存在することが明らかとなり、同配列を含むプロモーター領域を用いたレポーターアッセイにおいて、IRF-1 依存性の転写活性化が示された。実際、CD4+T 細胞において、IRF-1 が *Il-12rβ1* 遺伝子プロモーターの IRF 結合配列に結合することがクロマチン免疫沈降法により示された。さらに、レトロウイルスベクターを用いて IL-12Rβ1 を人為的に発現させると、*Irf-1* 遺伝子欠損マウス $CD4^+$T 細胞の IFN-γ産生が回復することが示され、$CD4^+$T 細胞において、IRF-1 が、主に IL-12Rβ1 の発現制御を通して Th1 分化誘導を担っていることが明らかとなった。

以上、本論文は、IRF-5 および IRF-1 が、それぞれ IL-12 および IL-12Rβ1 の発現誘導に必須の役割を果たすことを明らかにしたものであり、IL-12 産生およびその応答性制御の理解を大きく深めるものであるだけでなく、病原体感染や自己免疫疾患・アレルギー疾患の新たな治療法開発に貢献しうるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。