

審査の結果の要旨

氏名 金野 弘靖

本研究は TNF 受容体スーパーファミリーや Toll/IL-1 受容体ファミリーからのシグナルを伝達し、NF κ B の活性化を誘導するアダプタータンパク質である TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6)のウイルス感染防御における役割を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. RNA ウィルス由来の dsRNA (二本鎖 RNA)を認識する受容体、RIG-I もしくは MDA5 は転写因子 NF κ B 及び IRF を活性化して炎症性サイトカインや IFN (Interferon)産生を誘導する。RIG-I によって認識される SeV (Sendai virus)の感染に対して、TRAF6 遺伝子欠損 MEF (Mouse embryonic fibroblast)からの IL-6 産生は消失し、IFN α 及び IFN β 産生が減少することを明らかにした。MDA5 によって認識される EMCV (Encephalomyocarditis virus)の感染に対して、TRAF6 遺伝子欠損 MEF では IFN β プロモーター活性が減少することを明らかにした。さらに dsRNA である poly I:C や *in vitro* transcribed dsRNA をカチオン性リン脂質で細胞内に導入したところ、TRAF6 遺伝子欠損 MEF では IL-6 及び IFN α 産生が減少することを明らかにした。以上から TRAF6 は RIG-I 及び MDA5 を介した経路に関与して IL-6 や IFN 産生を誘導する機能があることが示された。
2. 野生型及び TRAF6 遺伝子欠損 MEF に poly I:C を導入してルシフェラーゼアッセイを行い、TRAF6 遺伝子欠損 MEF では NF κ B 及び IRF の転写活性が減少することを明らかにした。SeV の感染及び poly I:C による NF κ B の活性化をゲルシフト法で検討し、TRAF6 遺伝子欠損 MEF では NF κ B の核移行が減弱することを明らかにした。SeV の感染及び poly I:C による IRF3 の活性化を Native PAGE 法で検討し、IRF3 活性化に伴う二量体化は野生型 MEF

3. **TRAF6** シグナル制御因子として同定された **TIFAB** の生理的機能を解析する目的で遺伝子欠損マウスを作成し、その表現型の解析を行った。**TIFAB** の発現が脾臓や胸腺に多いこと、**TRAF6** 遺伝子欠損マウスに見られる異常が免疫系に多いことから、免疫系を中心に解析を行った。しかし **TRAF6** 遺伝子欠損マウスで異常が報告されている箇所を解析しても、**TIFAB** 遺伝子欠損マウスの異常は見られなかった。本研究で **TRAF6** がウイルス感染防御に関与することを明らかにしているため、同様に **TIFAB** が関与するか **SeV** 感染実験を行った結果、**TIFAB** 遺伝子欠損 MEF では野生型と比較して **IFN α** 産生が増強し、一方で **IL-6** 産生には差が無いことを明らかにした。**Poly I:C** を細胞内に導入してルシフェラーゼアッセイを行い、**TIFAB** 遺伝子欠損 MEF では **IRF** の転写活性が増強し、一方で **NF κ B** の転写活性には影響が無いことを明らかにした。**Poly I:C** による **NF κ B** の活性化をゲルシフト法で検討し、野生型と **TIFAB** 遺伝子欠損 MEF との間で **NF κ B** の核移行は差が見られないことを明らかにした。以上から **TIFAB** は **RIG-I/MDA5** を介する経路において **IFN** 産生に対して抑制的に機能していることが示された。

以上、本論文は **RIG-I/MDA5** を介した経路において **TRAF6** が炎症性サイトカインや **IFN** 産生を誘導し、ウイルス感染防御を担っていることを明らかにした。また **TRAF6** 制御因子として同定された **TIFAB** が **IFN** 産生に対して抑制的に機能していることを見出した。従って、本研究はウイルス感染時のシグナル伝達経路の解明に重要な貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものである。