

論文内容の要旨

細胞質内 DNA 受容体分子群による自然免疫系調節機構の解析

指導教員 谷口 維紹 教授

東京大学医学系研究科

平成 17 年 4 月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 王 志超

ウイルスや細菌など外来の DNA や適切に処理されなかった死細胞などの自己由来 DNA は、生体の DNA 認識受容体によって認識され、I 型インターフェロン (IFN- α/β) の誘導に代表される免疫応答を惹起する。最近、我々はこの DNA 認識受容体として DAI (DNA dependent activator of IFN regulatory factors) を同定した。DAI は Z α 、Z β の 2 つの DNA 結合ドメインを有するタンパク質である。今までの研究から、DAI の過剰発現、ノックダウンによって DNA 刺激時の IFN 誘導はそれぞれ亢進、減弱することや、DAI や I 型 IFN 誘導に必要な転写因子 IRF3 (Interferon regulatory factor 3) 及び IRF3 をリン酸化によって活性化する TBK1 (TANK binding kinase 1) キナーゼと結合することが知られている。しかしながら DAI が如何に DNA と結合するか、また DNA 認識後に DAI が下流のシグナル伝達経路を活性化する詳細な機構は不明であった。また、DAI 以外の DNA 認識分子が存在するのか、それらが如何なる機能を担うのか、といった課題は残されたままであった。本研究ではまず、DAI タンパク

質を精製し、DAI が DNA と直接結合することを明らかにした。DAI は poly (rI:rC) のような二本鎖 RNA とは結合せず、DNA 特異的に結合し、この結合には、Z α 、Z β の2つの DNA 結合ドメインに加え、D3 領域と名付けた新たな DNA 結合領域が必須であることが判明した。実際、これら DNA 結合ドメインのどれかを欠失させた DAI 変異体では、DAI 過剰発現による IFN 誘導の亢進が減弱しており、DAI と IRF3 及び TBK1 との会合にも減弱が認められた。次に、DAI はこれら3つの領域で DNA と結合すると、会合して二量体（多量体）を形成することを見いだした。そこで DAI と FK506 結合タンパク質の Fv ドメインとの融合タンパク質を L929 細胞に発現させ、二量体形成試薬の処理によって人工的に DAI 二量体を形成させると、DNA 刺激非依存的に IFN を誘導できることが判明した。すなわち DAI は DNA を認識し、二量体あるいは多量体を形成することで下流のシグナル伝達経路を活性化していると考えられた。さらに本研究における一連の解析を進めていく中で、DAI 以外にも自然免疫系を制御する DNA 認識受容体が存在することを明らかにした。マウス胎児線維芽細胞 (mouse embryonic fibroblast ; MEF) において、DNA 刺激による IFN の誘導は DAI ノックダウンによって抑制されるものの、その影響は L929 細胞のそれと比較し僅かであったことから、DAI の免疫系活性化への貢献が細胞種によって異なること、DAI 以外にも細胞質内 DNA 認識による自然免疫系活性化を担うメカニズムが存在することが示された。そして、RNA 編集に関わることが知られている ADAR1 (adenosine deaminase acting on RNA 1) には、DAI の Z α 、Z β と相同性を示す DNA 結合ドメインがあり、この ADAR1 を MEF に発現させると DNA 刺激での IFN 誘導は減弱し、一方で

Adar1 遺伝子欠損 MEF ではその誘導が亢進していた。これらの結果から、ADAR1 は DAI をはじめとする DNA 認識分子群による自然免疫系活性化を負に制御していることが示された。更に、DNA 型ウイルスであるワクシニアウイルスの E3L タンパク質はウイルスの増殖に必須であることが知られており、DAI の Z α ドメインに相同性を持つ部位を有しているが、この E3L はウイルス由来の DNA 認識分子であり、DNA 認識分子群による自然免疫系活性化を抑制することを見いだした。

本研究における一連の解析から、DNA 認識受容体である DAI の活性化機構のより詳細なメカニズムを明らかにすることができるとともに、DAI をはじめとする細胞質内 DNA 認識分子群による過剰な自然免疫系活性化を制御するメカニズムを担う分子が存在することも明らかとなった。