

## 論文の内容の要旨

### シグナル伝達抑制剤による免疫病態及びがんの抑制機構の解析

氏名 尾上 健太郎

生体における様々な応答は基本的には細胞内のシグナル伝達の結果引き起こされるものであり、このようなシグナル伝達機構は生体の恒常性維持において非常に重要な役割を担っている。シグナル伝達経路は無数に存在するが、一般に特定の受容体に細胞外シグナル分子が結合することで、細胞質中の因子が次々にシグナルを受け渡し、標的遺伝子の発現誘導等を通して最終的に特定の応答が引き起こされる。いうまでもなく、感染防御や抗腫瘍応答など生体を様々な異常から守る免疫応答系において、シグナル伝達とその調節は極めて重要であり、シグナル伝達の異常は感染症、炎症性疾患やがんをはじめとした重篤な疾患の原因となることは広く知られているところである。

免疫応答系において自然免疫系は感染等における初期の免疫応答を担う系として極めて重要であるが、近年の研究によって自然免疫系の活性化がその後誘導される適応免疫系の誘導に繋がっていることも判明しつつある。自然免疫系の惹起において中心的な役割を担っているのが、病原体等がもつ固有の分子パターン (Pathogen-Associated Molecular Patterns; PAMPs,) を認識する受容体、Pattern recognition Receptors (PRRs) である。なかでも、Toll 様受容体 (Toll-like Receptors ; TLRs,) とそのシグナル経路については、基本メカニズムの解明や免疫/炎症疾患との関わりを含め、精力的な研究が展開してきた。TLRs については、ヒト及びマウスで 13 種類 (ヒトで 10 種類、マウスで 12 種類) の TLR が同定されている。TLR がそれぞれ病原微生物特有の PAMPs, を認識すると、炎症性サイトカインや I 型インターフェロン (IFN) を誘導するシグナル伝達経路が活性化される。この様なシグナル経路はウイルスや細菌などの

感染防御に非常に重要な役割を果たしている。一方で、TLR 下流シグナル経路は自己免疫疾患や炎症性疾患との関連も報告されており、シグナルの過剰な活性化がこれらの疾患を増悪することが報告されている。

一方で、細胞増殖や細胞死に関連するシグナル伝達の異常は細胞のがん化と深く関連することが知られている。細胞が増殖するには増殖因子が必要であり、増殖因子が受容体に結合すると増殖シグナルが出され増殖に必要な遺伝子が転写誘導される。しかしながら、このようなシグナルに異常が生じ、増殖シグナルが伝達されつづけると細胞の無秩序な増殖が起こり、がん化が促進されることになる。また、通常生体内でがん化しつつある細胞はその多くががん化の過程でアポトーシスにより死滅するとされているが、アポトーシスに至るシグナル経路に異常が起こると細胞死が抑制され、同様にがん化が進行することも知られている。すなわち、「細胞の無秩序な増殖」と「細胞死の抑制」はR. Weinberg 博士らが提唱しているように、がんの特徴の根幹をなしている (The hallmarks of cancer; D. Hanahan & R. Weiberg, Cell, vol. 100, 57-70, 2000)。

これらの自然免疫応答と抗腫瘍応答のシグナル伝達経路は密接な関わり合いを持っており、中でも二重鎖 RNA によって活性化されることが知られている TLR3 シグナル経路は抗ウイルス応答や抗腫瘍応答および、ある種の炎症性疾患に関わる事が最近の報告により明らかになっている。TLR3 下流シグナルは、CVB3 に対する抗ウイルス応答に重要な役割を果たすことが知られているが、一方で、TLR3 シグナルの活性化はウエストナイルウイルス (WNV) やインフルエンザウイルス感染による脳炎や肺炎の増悪に関与する。また、合成二重鎖 RNA である polyinosine-polycytidylic acid (以下、polyI:C) による TLR3 シグナルの活性化は NK 細胞の活性化を誘導し、抗腫瘍応答に関与することが知られている。一方で、TLR シグナルの下流で活性化されるタンパク質リン酸化酵素

素やNF- $\kappa$ Bを始めとする転写因子は細胞がん化とも密接に繋がっていることは注目に値する。

私は感染症やがんなどの病態に関わるシグナル伝達系を制御する化合物を同定し、免疫病態及びがんの抑制機構を解明するため、両病態に深く関わりと考えられる TLR3 下流シグナル伝達経路に着目し、同シグナル経路を制御する化合物のスクリーニングを行なった。まず私は、NF- $\kappa$ B reporter 遺伝子と TLR3 が恒常的に発現するレポーター細胞 を作製し、polyI:C 刺激による NF- $\kappa$ B reporter 遺伝子の活性化を抑制する化合物を TLR3 シグナル経路の抑制剤候補として探索した。スクリーニングにより TLR3 下流シグナルの抑制剤候補が複数同定され、その内の一つはマウス腹腔内マクロファージ(PEC)を polyI:C で刺激した際の遺伝子誘導を強力に抑制した。この化合物を IMF-001 と名付け TLR3 のシグナル抑制剤とした。

さらに IMF-001 の解析を進めた結果、IMF-001 は NF- $\kappa$ B の活性化に関わるシグナルを抑制し、様々な TLR および TNF- $\alpha$ 下流シグナル経路を介した炎症性サイトカイン誘導を抑制することが判明した。一方で、同じく TLR、TNF- $\alpha$ レセプター下流に存在する JNK/p38 MAP kinase 経路の活性化は増強することが分かり、さらにこのような NF- $\kappa$ B シグナルの抑制と、MAPK シグナル経路の活性化というユニークな性質をもつ IMF-001 はある種のがん細胞の増殖を顕著に抑制することを見いだした。

これらの知見に基づき、IMF-001 を用いたシグナル経路の制御が、免疫病およびがんの増殖に与える影響を、マウスモデルを用いて検討したところ、IMF001 の投与により TLR シグナルの関与する敗血症、関節炎の進行が顕著に抑制され、一方で、B16 メラノーマ細胞(以下、B16)の肺転移増殖能、ヌードマウスにおける Hela 細胞の腫瘍形成が顕著に抑制された。

これまで開発されている NF- $\kappa$ B 阻害剤は IKK 及び I $\kappa$ B のリン酸化阻害及び p50/p65 の核移行を標的にしたものであるのに対し、IMF-001 は NF- $\kappa$ B シグナルを抑制し、MAPK シグナルの活性化するユニークな特性を持つシグナル制御剤として位置づけられ、IMF-001 によるシグナルの制御が敗血症、関節炎、がんの抑制に著明な効果を示すことが明らかとなった。本研究によって、シグナル系を制御する新しい化合物が発見され、その作用機序の大枠が確立されたことにより、更にシグナル系の調節機構の詳細な解明や化合物の改良等による新しい治療薬の開発に繋がることが期待される。