

論文の内容の要旨

論文題目 自然免疫系活性化における核酸認識受容体の同定とその制御機構の解析

氏名 藩 龍馬

免疫系は、外来の病原体や異物を非自己として認識し、排除することで生体の恒常性維持に必須の役割を果たしており、その破綻は感染症や自己免疫疾患などの様々な病態の発症に影響を及ぼす。免疫系は、無脊椎動物や植物にも存在する自然免疫系と、脊椎動物にのみ存在する獲得免疫系に大別される。自然免疫系は、微生物や外来の異物の侵入を逸早く察知し、抗原提示およびサイトカインの産生を介した獲得免疫系の活性化の促進、またその他様々な免疫応答を惹起することで生体防御応答の最前線を担っている。自然免疫系におけるウイルスや細菌など病原体侵入の察知は、その病原体に特有の分子構造パターン(pathogen-associated molecular pattern; PAMP)を、Toll様受容体(Toll-like receptor; TLR)に代表される種々のパターン認識受容体(pattern recognition receptor; PRR)が認識することによって為されると考えられている。PRRによるPAMPの認識により、PRR下流のシグナル伝達経路が活性化され、I型インターフェロン(interferon; IFN)や炎症性サイトカインの誘導などの免疫応答が発動されることが知られている。現在まで、様々な病原体由来

の PAMP が報告されているが、その中でも細菌やウイルス由来の核酸は、免疫応答を強力に誘導することが分かっており、それらの免疫原性核酸を認識する受容体やそのシグナル伝達経路、および関連する疾患の解析は近年急速に進展しつつある。自然免疫系における核酸認識受容体として、膜型受容体の TLR3/7/9、細胞質内受容体の DAI (DNA-dependent activator of IRFs)、RIG-I (retinoic acid-inducible gene I)、MDA5 (melanoma differentiation-associated protein 5) および AIM2 (absent in melanoma 2) 等が同定されているが、中でも、細胞質内 DNA 認識受容体については未だ不明な点が多く、複雑性に富み、その全貌は明らかになっていない。

そこで、本研究では、さらに DNA 認識機構について明らかにすべく、細胞質内 DNA 結合タンパク質のスクリーニングを質量分析法 (mass spectrometry; MS) によって検討し、DNA 認識に関連する分子群の同定を目指した。このスクリーニングによって、HMGB (high-mobility group box) タンパク質 (HMGB1, HMGB2, HMGB3) が候補分子として得られた。HMGB タンパク質はそれぞれ相同性が高く、N 末端側に 2 つの DNA 結合ドメインを有する核タンパク質として知られている。核タンパク質として機能する一方で、一部は細胞質に存在し、TLR9 シグナル伝達経路に関与することが報告されている。様々な核酸を用いて HMGB タンパク質と核酸との結合について検討したところ、HMGB は、DNA のみならず RNA とも結合することが判明した。そこで、HMGB の核酸刺激による免疫応答の活性化における役割を検討したところ、*Hmgb1*^{-/-}細胞では DNA と RNA の両方の刺激において、*Hmgb2*^{-/-}細胞では DNA 刺激に対する核酸刺激時における免疫応答が減弱することが判明した。さらに、全ての HMGB (HMGB1/2/3) をノックダウンした細胞においては、DNA 及び RNA の両方の核酸刺激時における免疫応答が顕著に減弱することが明らかとなった。これらの解析から、HMGB による核酸認識は、DNA と RNA の両方の経路に共通のもので

あることが示唆された。さらに、HMGB タンパク質は細胞質内核酸刺激のみならず、核酸認識 TLR の刺激による免疫応答の活性化や、インフラマソームの活性化にも機能していることが明らかとなり、HMGB タンパク質はこれらの受容体シグナルにおいて共有される機構を調節しているものと考えられた。すなわち、HMGB タンパク質は核酸の「万能な監視役」として機能しており、より特異性の高い細胞質内受容体や TLR などの核酸認識受容体による、個々の核酸リガンドの認識を介した自然免疫応答の活性化に必要だと考えられた。

これらの知見から、HMGB タンパク質の機能を阻害することができるならば、核酸による免疫系の活性化を抑制でき、さらには核酸の関与する、または HMGB タンパク質の関与する病態を抑制できるのではないかと考えるに至った。このような発想のもと、上述の解析の中で、HMGB と高いアフィニティーを示す ODN (oligodeoxynucleotides) が存在することが示された。そこで、この ODN の配列に変異を入れて免疫原性 (immunogenicity) を無くしたものを作製し、核酸を介した免疫応答への抑制効果を検討した。その結果、細胞質内核酸認識受容体や核酸認識 TLR による免疫応答を抑制できることが明らかとなった。さらに、自己免疫疾患や敗血症モデルにおいて、この非免疫原性 ODN を投与することにより病態が軽減されることが示された。

これら一連の結果は自然免疫系における核酸認識機構の解明に新たな知見を供するものであり、HMGB の機能を制御する方法を開発することにより、自己免疫疾患等の治療応用に適用できる可能性があると考えられる。