

審査の結果の要旨

氏名 藩 龍馬

本研究は核酸を介した免疫応答において重要な役割を果たしている DNA 認識機構について明らかにすべく、細胞質内 DNA 結合タンパク質の同定と核酸免疫応答における役割を解析し、そこで得られた結果をもとに核酸を介した免疫応答の制御法の検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 細胞質内 DNA 結合タンパク質のスクリーニングを行い、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。リコンビナント HMGB タンパク質を用いたプルダウンアッセイの結果、HMGB タンパク質は様々な免疫原性核酸と結合し、HMGB1 及び HMGB3 は DNA、RNA の両方と、HMGB2 は DNA のみと結合することが示された。
2. 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*<sup>-/-</sup>細胞では DNA と RNA の両方の刺激において、*Hmgb2*<sup>-/-</sup>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。
3. HMGB ノックダウン細胞を用いた解析により、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 (Toll-like receptor) 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示された。さらに、抗ウイルス応答においても HMGB が重要な役割を果たしていることが示された。
4. プルダウンアッセイにて HMGB と高いアフィニティーを示した CpG-B ODN (oligodeoxynucleotides) の配列に変異を入れ、その免疫原性を無くした、ISM ODN を作製した。プルダウンアッセイの結果、ISM ODN は調べた ODN の中で HMGB1 タン

パク質と最も強いアフィニティーを示し、HMGB2 および HMGB3 とも結合することが示された。

5. ISM ODN で細胞を前処理することによって、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示された。また、HMGB1 タンパク質と高いアフィニティーを示す ODN は、核酸刺激による免疫応答の抑制効果が高く、逆に HMGB1 タンパク質とのアフィニティーが低い ODN では抑制効果が殆ど見られなかった。
6. ISM ODN のマウスへの投与により、核酸をアジュバントとする ovalbumin 特異的な適応免疫系の活性化を抑制できることが示された。さらにマウス疾患モデルの解析により、ISM ODN は EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis) の病態を抑え、LPS (lipopolysaccharide) 誘導性の致死性ショックにおける生存率を改善することが明らかとなった。

以上、本論文は、細胞質内 DNA 結合タンパク質として同定された HMGB タンパク質が、核酸を介した免疫応答に汎く関与する共通のセンサーの役割を果たしていることを見出した。また、HMGB タンパク質の機能を阻害することによって、核酸による免疫系の活性化を抑制できるのではないかという仮説のもと、HMGB と高いアフィニティーを示す非免疫原性 ODN 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、この ODN を自己免疫疾患の動物モデルなどに適用し、個体レベルにおいて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重要な貢献を為すものであり、核酸や HMGB タンパク質が関与する疾患の治療応用に適用できる可能性があると考えられる。以上から、本論文の内容は学位の授与に値するものと考えられる。