

論文審査の結果の要旨

氏名 菅野 敦夫

本論文は世界で初めて抗 TLR7 モノクローナル抗体を樹立したことで、新たな TLR7 の機能と分布の可能性について述べられている。

TLR7 は核酸認識系 TLR の 1 つであり、生体防御機構に重要な分子である。しかし外来病原体の感染を防御する一方で、全身性エリテマトーデスモデルマウスは TLR7 応答依存的に病態増悪を誘発することが報告されている。それゆえ、生体内にとって TLR7 応答は厳密に制御されなければならない。TLR7 の応答性は RNase や Unc93 homolog B1(Unc93B1)、cathepsin によって適切に制御されている。しかし、これらの報告は主に C 末端に Tag を付加させた TLR7 を用いて示されてきた。TLR7 のシグナルは C 末端に存在する Toll/IL-1R homology(TIR)ドメインを介して細胞内へ伝えられる。それゆえ、C 末端に Tag を標識された TLR7 は Tag の存在が障害となる可能性がある。

本論文では、C 末端に Tag を付加させた TLR7 は Tag を付加させない TLR7 と比較して、TLR7 の応答性が低いことが示されている。これは Tag を標識させた TLR7 と内在性 TLR7 が一致した機能性を有していない可能性がある。そこで、本論文提出者は内在性 TLR7 をタンパク質レベルで検出するために、世界で初めて実用的な抗 TLR7 モノクローナル抗体を樹立している。新規に樹立した抗 TLR7 抗体の特徴は TLR7 をフローサイトメトリーや免疫沈降で検出でき、共焦点顕微鏡による観察もできる。これらの特性をもつ抗 TLR7 抗体を用いて、内在性 TLR7 が N 末端側フラグメントと C 末端側フラグメントのシステイン残基を介してジスルフィド結合していることを見出した。また、一部のシステイン変異型 TLR7 では切断された TLR7 が検出されず、その TLR7 応答も消失した。しかし、切断型 TLR7 が検出されなかったシステイン変異型 TLR7 の細胞内分布は野生型 TLR7 と比較して差はみられず、このシステイン変異型 TLR7 はタンパク分解酵素に抵抗性をもつ可能性が示唆された。また、定常状態におい

て、野生型 TLR7 の分布は小胞体のみならず、小胞体以外にも局在が観察された。そこで、本論文提出者は抗 TLR7 抗体を用いて、定常状態における内在性 TLR7 タンパク質の発現および分布を種々の細胞群で検討した。その結果、従来では、小胞体に局在しているとされていた TLR7 が骨髄細胞から誘導したマクロファージで細胞表面に発現していることが検出された。次に、本論文提出者はこれら細胞表面に発現している TLR7 の機能性を検証するために、抗体による阻害効果を試みている。その結果、抗 TLR7 抗体が TLR7 リガンド刺激によって産生される炎症性サイトカインや I 型インターフェロンを抑制する効果を持ち合わせていることを見出している。しかし、抗 TLR7 抗体は TLR7 が細胞表面に発現していない骨髄細胞から誘導した骨髄系樹状細胞や形質細胞様樹状細胞に対しても TLR7 応答を阻害する。したがって、細胞表面に発現した TLR7 と抗 TLR7 抗体による阻害効果の関連性は未解決である。TLR7 が細胞表面に発現する機構やその生物学的な意義を解明するための今後の研究が期待される。さらに、抗 TLR7 抗体による TLR7 応答の抑制効果は TLR7 応答依存的に病態増悪を引き起こす自己免疫疾患の治療に期待される知見であり、臨床応用に向けて生体への抗体投与実験の研究成果が望まれる。

なお、本論文で示された TLR7 のジスルフィド結合部位であるシステイン残基が及ぼす TLR7 応答への影響は、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1577 字