



Title	細胞質内ウイルスDNAへの細胞特異的な自然免疫応答とウイルスによるその抑制 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	鈴木, 孝幸
Description	配架番号 : 2154
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11672号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59035
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takayuki_Suzuki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 鈴木 孝幸

主査	教 授	有 賀	正
審査担当者	副査	教 授	豊 嶋 崇 徳
	副査	教 授	橋 野 聡
	副査	教 授	渥 美 達 也
	副査	教 授	畠 山 鎮 次

学 位 論 文 題 名

細胞質内ウイルス DNA への細胞特異的な自然免疫応答とウイルスによるその抑制
(Cell type-specific innate immune response to cytoplasmic viral DNA
and its suppression by viral proteins)

自然免疫応答において、細胞質内のウイルス DNA を認識するセンサー分子は複数報告されており、これらはそれぞれ異なったアダプター経路に連結する。DNA センサー分子である cGAS は小胞体上に存在するアダプター分子である STING を介して I 型インターフェロン(IFN)の産生を誘導する。一方で、RNA センサー分子である RIG-I はウイルス RNA のみならずウイルス DNA も認識し、ミトコンドリア外膜上に局在するアダプター分子である IPS-1 を介して I 型 IFN 産生を誘導する。STING や IPS-1 はリン酸化酵素である TBK1 の自己リン酸化を誘導し、転写因子の IRF-3 をリン酸化することで I 型 IFN 産生を誘導する。本研究では、リン酸化した TBK1 に対する抗体を用いてウイルス DNA 刺激によるリン酸化 TBK1 の細胞内局在を追跡し、細胞質内 DNA から I 型 IFN 誘導に関与する責任分子の探索を行った。申請者は異なる生物種の様々な細胞種を用いて実験を行い、ヒトとヒト以外の哺乳類では DNA の自然免疫応答に対して優位に働くセンサーとアダプター群が異なることを明らかにした。

多くのウイルスは、ヒトの自然免疫応答を制御して増殖する。DNA ウイルスである B 型肝炎ウイルス(HBV)は数十年にわたりヒトの肝細胞に感染し、宿主の自然免疫応答を抑制する。申請者はこのメカニズムの解明に取り組み、HBV のポリメラーゼタンパク質が宿主の RIG-I 分子の活性化を抑制するという新たなメカニズムを発見した。

学位論文発表後、副査である橋野聡教授より、HBV の遺伝子型による免疫応答の違いに関する質問、本研究の臨床応用における展望に関する質問があった。申請者は、RIG-I や DNA センサーによる I 型 IFN 産生は核酸配列に依らない事を説明し、一方で HBV ポリメラーゼのアミノ酸配列の違いにより I 型 IFN 抑制能に強弱が生じる可能性があるかと回答した。また、HBV ポリメラーゼと RIG-I CARD の相互作用を阻害する薬剤の開発により、B 型肝炎の免疫治療に寄与できるが、それには更なる抑制機序の解明が必要であると回答した。副査である渥美達也教授より、I 型 IFN が産生されないと報告される肝細胞に

において、I 型 IFN に着目した研究の有用性についての質問があった。申請者は、肝細胞が I 型 IFN を産生するという報告がある事を説明し、I 型 IFN 産生が少なくとも、周辺細胞の免疫応答を誘導する事で最終的に強い免疫応答を導くことが出来ると説明した。副査の畠山鎮次教授より、TRIM25 による RIG-I CARD のポリユビキチン化の様式に関わる質問、ユビキチン鎖の減少と分解速度に関する質問、DNA 配列の違いにより IPS-1 または STING 関与経路の選択が起きるのではないかという質問があった。これらの質問に対し、ユビキチン化の様式はリジン 63 を介した結合であり、シグナル応答に関与するユビキチン化であることを説明した。また、HBV ポリメラーゼの発現による RIG-I CARD のユビキチン鎖の分解速度の昂進については、今後証明する必要があると回答した。また RIG-I は B 型 DNA、各 DNA センサーは配列非特異的に DNA を結合すると報告されているため、DNA 認識経路の選択は DNA 配列に依存しているものではない事を説明した。また副査である豊嶋崇徳教授より、肝細胞での細胞質内 DNA 応答における STING の関与に関する質問、HBV に関する研究で TRIM25 に注目した理由に関する質問があった。申請者は、肝細胞にはアダプター分子である STING が発現しておらず、STING を介した細胞質内 DNA 応答は肝細胞では起きない事を説明した。また RIG-I の活性化には TRIM25 によるユビキチン化が必須である事に触れ、Huh7 細胞においてポリメラーゼが RIG-I CARD によるシグナルを強く抑制し、更にポリメラーゼが RIG-I CARD と相互作用をしたため TRIM25 に注目したと説明した。最後に主査である有賀正教授より、実験に用いた鮭精子由来 DNA とウイルス DNA による免疫応答の差異に関する質問があった。申請者は、DNA 認識レセプターにはエンドソームに局在する TLR9 と様々な細胞質内センサーが存在し、TLR9 は DNA の CpG 配列を認識するが、細胞質内 DNA センサー群は DNA の配列に依らず、幅広い DNA に結合することを説明した。

この論文は、細胞質内 DNA 応答による I 型 IFN の産生経路は細胞種特異的である事、HBV 感染肝細胞では I 型 IFN の産生が抑制される事を証明した。特に DNA ウイルス感染においてマウスによる実験とヒト細胞を用いた実験に差異が生じる事を示した点が高く評価され、更に HBV ポリメラーゼによる新たな I 型 IFN 抑制機構を示した点は、感染細胞に於ける自然免疫応答を解明するための重要な見解である。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、これまでの研究活動における研鑽なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。