HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	フォークヘッド転写因子FOXO3aによるインターフェロン-β遺伝子の発現制御機構の検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	加島, 裕基
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12604号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65845
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroki_Kashima_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　氏　名　加　島　裕　基

審査担当者	主査　教授	北　川　善　政
	副査　教授	田　村　正　人
	副査　特任教授	進　藤　正　信
	副査　教授	武　田　宏　司（薬学研究院）

学　位　論　文　題　名

Regulation of Interferon-β gene expression by forkhead transcription factor FOXO3a
（フォークヘッド転写因子 FOXO3a によるインターフェロン-β
遺伝子の発現制御機構の検討）

審査は，審査担当者全員の出席の下，はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ，審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

インターフェロン-β（IFN-β）はウイルス感染における免疫，炎症反応において重要であるが，制御を逸脱した過剰な IFN 応答は生体にとって有害となる。そのため，IFN 応答を適正に抑制することが種々の疾患の治療に重要であるが，IFN 応答に関しては未だ不明な点が多い。一方，FOXO3a は DNA 結合ドメインに Forkhead box を有する Fox Family のサブタイプ“O”に属する転写因子であり，標的遺伝子の転写を介して酸化ストレス応答，糖新生，細胞周期停止，アポトーシス誘導などの生体機能に関与する。過去に FOXO3a が IFN-β遺伝子発現を負に制御する報告がなされたが，詳細な機序は不明である。そこで，申請者らは FOXO3a による IFN-βの発現制御機構の解明を目的として検討を行った。

ヒト胎児腎細胞である HEK293T 細胞及びヒト TLR3 安定発現細胞株である 293-TLR3 細胞に FOXO3a を過剰発現させた後に人工的に合成した二重鎖 RNA である polyIC を導入し，IFN-β mRNA 発現量を定量的 RT-PCR により測定した。次に 293T 細胞に MAVS, TBK1, IRF3-5D を FOXO3a と共発現させ，IFN-βプロモーター活性をルシフェラーゼアッセイにより測定した。更に 293T 細胞に TBK1, FOXO3a, IRF3 を導入後，免疫沈降およびウエスタンブロットにより FOXO3a と TBK1, IRF3 の相互作用について検討した。最後に，PI3K 阻害剤 LY294002 処理による FOXO3a の細胞内局在を HeLa 細胞にて免疫蛍光染色により検討した。そして，293T 細胞において LY294002 処理下で人工的に合成した B 型 DNA, polydAdT (B-DNA) により誘導される IFN-βmRNA の発現量を定量的 RT-PCR にて解析した。

検討の結果，FOXO3a の過剰発現は，polyIC により誘導される IFN-βmRNA の発現および細胞質に局在するシグナル伝達因子 MAVS もしくは TBK1 の導入で誘導される IFN-βプロモーターの活性化を抑制した。一方，核内に局在する IRF3-5D の導入により誘導される IFN-β

プロモーターの活性化に対しては，FOXO3a の過剰発現は影響を与えなかった。また，TBK1 と FOXO3a の物理的な結合が認められ，FOXO3a の共発現により IRF3 のリン酸化が減弱したが，TBK1 のリン酸化は変化しなかった。更に，LY294002 処理により FOXO3a の核への局在が観察され，同処理下では B-DNA 導入による IFN-βmRNA の発現が有意に増強した。

以上より，FOXO3a は細胞質にて TBK1 と相互作用し，IRF3 リン酸化を減弱させて IFN-β発現を負に制御する可能性が考えられた。

引き続き論文内容及び関連事項について，以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1）AKT 依存的にリン酸化され，細胞質へ排出された後の FOXO3a の挙動について
2）FOXO3a ノックアウトマウスが示す表現型について
3）MAVS や TBK1 の導入による IFN-βプロモーター活性上昇の程度について
4）IRF3-5D の作製過程や方法，細胞内での動態について
5）免疫共沈降において使用した tag タンパクの組み合わせの根拠について
6）既報と異なり，FOXO3a と IRF3 の結合が認められなかった原因について
7）FOXO3a と NF-κB の関連性について
8）FOXO3a 以外の FOXO で現在までに報告されている機能について
9）飢餓条件下など別の条件でも FOXO3a 細胞内局在の検討を行ったかどうかについて

以上の質問に対して申請者からは適切かつ明確な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて，申請者が本研究ならびに関連分野に対して十分理解し，幅広い知識を有していると考えられ，本研究のさらなる発展，進行が期待された。

以上のことから，審査委員会は全員，本研究が学位論文に十分に値し，申請者が博士（歯学）の学位を授与される資格を有するものと認めた。