



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Interleukin-32はウイルス感染時の自然免疫経路を活性化する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	郷, 俊寛
Description	配架番号 : 2455
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13441号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74343
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Toshihiro_Goh_review.pdf, 審査の要旨



(様式 16)

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 郷 俊 寛

主査 教授 村上 正 晃
審査担当者 副査 教授 坂本 直 哉
副査 教授 佐邊 壽 孝
副査 教授 野口 昌 幸

学 位 論 文 題 名

Interleukin-32 はウイルス感染時の自然免疫経路を活性化する
(IL-32 activates innate immune pathway in virus infection)

申請者は、自然免疫応答の細胞内核酸認識経路における、IL-32 の関与について検討を行った。その結果、自然免疫が活性化すると、IL-32 は IRF-3 と結合し TBK1 と IRF-3 の会合を促す事で、IRF-3 のリン酸化を正に制御し、抗ウイルス応答を促進させることを明らかにした。本学位論文審査ではこの研究結果をもとに、より詳細な分子機構や実験方法、さらには本研究で新たに見出した信号伝達促進機構の生体内での意義などについて議論がなされた。

審査にあたり、まず副査の坂本教授から、ウイルス感染により活性化する自然免疫経路に関する質問があった。本研究ではウイルス感染時に活性化される細胞内における自然免疫経路と IL-32 の関連性について検証しているが、細胞膜に存在する toll like receptors (TLRs) を介した自然免疫経路の活性化に IL-32 が関与する事を検証したか質問された。申請者は、TLR と IL-32 の関連性については検証していないと回答し、ウイルス感染した細胞が死滅した際に細胞外に遊離したウイルス核酸が TLRs により感知され自然免疫が活性化する可能性はあるが、RIG-I のリガンドである 5' triphosphate RNA (3pRNA) で刺激した時に IL-32 欠損細胞で I 型 interferons (IFNs) の産生誘導が低下したことから、少なくとも IL-32 は細胞内の自然免疫応答に関与していると説明した。また、免疫染色時の IRF-3 の画像に関する質問があった。定常状態の細胞で IRF-3 を免疫染色した場合、細胞

質に均質に染色される事が知られているが、本研究で提示した画像では IRF-3 が細胞質に顆粒状に染色されており、従来考えられている染色型と異なっていることについてどのように考察しているか問われた。申請者は、定常状態の細胞に過剰発現させた IL-32 が顆粒状に染色している事と、本研究で IRF-3 と IL-32 が結合する事が判明した結果を踏まえて、本来均質に染色されていた IRF-3 が IL-32 を発現させたことにより IL-32 と結合したため、染色型が変化した可能性があるかと回答した。次に副査の佐邊教授より IL-32 の生体内における意義に関する質問があった。IL-32 の機能不全が認められた場合に生体にどのような影響があるか質問された。申請者は自然免疫の活性化が低下し病原体に対して易感染性になる事が予想されると回答した。また、IL-32 が発現している生物と発現していない生物との違いについて質問された。申請者は IL-32 に類似したタンパク質が存在しないマウスやラットでは B 型肝炎ウイルス (HBV) に感染しないことを例にあげ感染するウイルスの種類が異なると回答し、IL-32 は HBV の増殖を抑制する報告を踏まえて、進化の過程で特定のウイルスに対して IL-32 の抗ウイルス応答が必要であった可能性があるかと述べた。次に副査の野口教授より、IL-32 のアイソフォームに関する質問があった。本研究における IL-32 の過剰発現や刺激実験では IL-32 γ を用いているが、全 6 種類のアイソフォームのうち IL-32 γ を選択した理由について質問された。申請者は本研究で、自然免疫が活性化された時に、全ての IL-32 のアイソフォームで I 型 IFNs を産生誘導が増加し、抗ウイルス応答を促進させたが、IL-32 γ が最も効果が大きかったため選択したと回答した。また、IL-32 γ が他のアイソフォームよりも自然免疫活性を促進する作用が大きい理由についての質問に対し、申請者は、データベースで分析した結果、IL-32 γ には 4 つ casein kinase 2 によりリン酸化修飾を受ける候補部位があるが、他のアイソフォームにはこの部位が 3 つ以下であった事を説明し、タンパク質モチーフの数の差異が IRF-3 との結合における親和性に依存している可能性があるかと回答した。最後に主査の村上教授より、本研究において細胞外より HEK293T 細胞に IL-32 γ を刺激してもサイトカインが誘導されなかった理由について質問された。申請者は細胞膜に存在する IL-32 の受容体はこれまでに protease-activated receptor 2 (PAR2) が報告されており、HEK293T 細胞では PAR2 の発現がない可能性があるかと回答した。この論文は、IL-32 のウイルス感染時の新規の役割を発見したものとして高く評価され、これらの研究結果が免疫学の発展、ウイルス治療に向けて大きく貢献するものと期待される。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、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。