

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	成育科学領域小児病態学教育研究分野 氏名 千葉 友揮
(論文題目) Retinoic acid-inducible gene-I-like receptor (RLR)-mediated antiviral innate immune responses in the lower respiratory tract: Roles of TRAF3 and TRAF5 (下気道におけるレチノイン酸誘導遺伝子-I様受容体を介した抗ウイルス自然免疫応答: TRAF3とTRAF5の役割)	
(内容の要旨) 自然免疫系はウイルス感染に対する宿主免疫の first line として重要な役割を担っている。自然免疫は、病原体が保持する病原体関連分子パターン (pathogen-associated molecular patterns; PAMPs) を宿主のパターン認識受容体 (pattern recognition receptors; PRRs) が認識することで開始される。レチノイン酸誘導遺伝子-I (retinoic acid-inducible gene-I; RIG-I) 様受容体 (RIG-I-like receptors; RLRs) は PRRs のひとつであり、このうち RIG-I は細胞質内に存在するウイルスセンサーであるが、リガンドを認識すると構造変化を起こし、ミトコンドリア外膜に存在するアダプター分子 mitochondrial antiviral signaling (MAVS) と相互作用する。MAVS は二量体化し、さらに下流のアダプター分子である tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factors (TRAFs) や、nuclear factor- κ B (NF- κ B)、interferon regulatory factor 3/7 (IRF 3/7) といった転写因子を活性化するカスケードを形成し、最終的に炎症性サイトカインや I 型インターフェロン (interferon; IFN) を産生して細胞の抗ウイルス状態を作り出す。以上を RLR signaling と呼ぶ。 TRAF は多様な受容体ファミリーの signal transducer であり、活性化するとその E3 ユビキチンリガーゼ活性によりシグナル伝達を調節する。TRAF ファミリーは TRAF1~6 の 6 種類で構成されるが、RLR signaling においては TRAF2, 3, 5, 6 の関与が示唆されてきた。しかし、抗ウイルス応答における TRAF 分子の機能と発現について、組織特異性に言及した文献は見当たらない。 呼吸器系は常に外界に暴露されており、下気道の上皮細胞は RS ウイルス、インフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルス等の標的となるゆえ、感染に対する物理的バリアの他、抗ウイルス応答の first line としても機能している。よって、気管支上皮細胞 (bronchial epithelial cells; BECs)、肺胞上皮細胞 (pulmonary alveolar epithelial cells; AECs) も PRRs を発現しているが、それぞれの表現型の違いから、下気道の抗ウイルス自然免疫応答に組織特異性を生じている可能性が考えられる。RLR signaling における重要性が決定的な TRAF3 と、これと構造的な相同性はあるもののその役割については evidence の集積に乏しい TRAF5 に着目し、両組織での抗ウイルス応答における重要性に相違があるかについて検討した。 BECs、AECs 共に合成二本鎖 RNA (poly I:C) の導入に対して濃度依存的に IFN- β (mRNA) を発現したが、その傾向は BECs においてより顕著であり、両者での外来 RNA に対する感受性の違いが窺えた。一方で、Western blotting 法による RIG-I および MAVS の発現解析では両者に明らかな相違を認めず、カスケードのこれらより下流に存在する分子が RNA への感受性の違いに関与している可能性が示唆された。また、TRAF3 または TRAF5 に対する RNA 干渉法の後に poly I:C を導入すると、両者で IFN- β mRNA の発	

現が有意に抑制された。さらに、**Western blotting** 法でこれら両タンパク質の発現を組織間（食道、喉頭、気管支、肺、末梢血白血球）で比較検討したところ、他者に比して気管支、肺において発現を強く認めたものの、その程度は特に気管支において顕著であった。白血球においても若干の発現を認めた。加えて、免疫組織化学では、BECs、AECsのいずれでも TRAF3 の染色強度は TRAF5 のそれより強かったが、組織間で比較すると、いずれのタンパク質も BECs において強い陽性像を示した。肺においては I・II 型肺胞上皮細胞や肺胞マクロファージがまだらに染色されていたのに対し、気管支では BECs がびまん性に染色された。

以上から、下気道において **RLR signaling** が機能していることを確認した上で、その活性は AECs よりも BECs で著しく強いことが明らかとなった。その理由として、肺胞には肺胞マクロファージ、樹状細胞、T 細胞等の多様なエフェクター細胞が存在していることから、非免疫担当細胞である AECs で行われる免疫応答への依存度が低いことが考えられた。また、下気道での IFN- β 産生には TRAF3 と TRAF5 が寄与していることが判明し、その重要度は発現レベルと関連があり、特に BECs で突出していることが分かった。

すなわち、下気道の抗ウイルス自然免疫応答においては、気管支上皮細胞に存在する TRAF3 および TRAF5 が重要な役割を果たしていることが証明された。