

論文内容要旨

論文題目

The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA

ユビキチンライゲース TRIM56 による、二本鎖 DNA に対する自然免疫反応の制御

責任講座： 小児科学講座

氏名： 土田 哲生

【内容要旨】(1,200 字以内)

背景および目的：自然免疫は、ウイルス、細菌、および寄生虫感染に対する生体防御機構の最前線を担っている。生体内に侵入した病原体は、病原体間で共有する分子構造を認識するパターン認識受容体により認識され、炎症性サイトカインやケモカインの産生を誘導する。さらに、獲得免疫系を活性化し、特異的免疫応答の発動を導く。近年、RNA ウイルスに対する感染認知機構とそのシグナル伝達経路が明らかにされた。しかし、DNA ウイルス感染を感知する細胞内の DNA センシング機構や、その下流にあるシグナル伝達経路は未だに明らかにされていない。また、この DNA 認識機構は、病原体に由来する DNA を認識するだけでなく、アポトーシス細胞などから漏出した宿主由来の自己 DNA を認識することで、自己免疫疾患の病態形成とも関連すると考えられるため、速やかな解明が期待されている。そこで私は、dsDNA 刺激により誘発される自然免疫応答に関わる新しい分子を探索し、その機能の解析を試みた。

方法：私は、ルシフェラーゼレポーターアッセイを用い、候補遺伝子の機能的スクリーニングを行った。まず cDNA ライブラリーから作成した発現ベクターと INFB プロモーターで制御されるレポータープラスミドを HEK293 細胞へ共発現さ

せ、トランスフェクションを用いて合成 dsDNA で刺激した。その後、レポーターアッセイを行い、dsDNA 刺激による IFN β プロモーターの活性化を亢進する遺伝子を検索した。また検出した遺伝子がコードする分子の機能を、分子生物学的手法を用いて解析した。

結果：dsDNA 刺激により誘発される自然免疫応答に関わる新規分子として Tripartite-motif (TRIM) ファミリー蛋白のひとつである TRIM56 を同定した。TRIM56 は N 末端に RING フィンガードメイン、B-Box ドメイン、Coiled-Coil ドメインを有し、I 型 IFN 刺激により発現が誘導された。マウス線維芽細胞へ TRIM56 を過剰発現させると、dsDNA のトランスフェクション刺激に対する IFN β プロモーター活性が亢進した。逆に、HEK293 細胞において siRNA を用いて TRIM56 をノックダウンすると、dsDNA 刺激による IFN β プロモーターの活性は減弱した。また、TRIM56 は、dsDNA 刺激による IFN 産生に関与するシグナル伝達分子である Stimulator of interferon genes (STING) と共発現することで、STING の作用を増強した。さらに、TRIM56 は STING と会合し、STING の 150 番目のリシン残基に K63 リンク型ポリユビキチン鎖を結合させることを明らかにした。STING K150R 変異体により STING のユビキチン化を阻害すると、STING の二量体形成が障害され、STING の TBK1 を介する I 型 IFN 産生が障害された。

考察：同定した TRIM56 は STING K150 をユビキチン化することで dsDNA 刺激による IFN 産生を正に制御すると考えられた。TRIM56 のより詳しい機能解析により、自己免疫疾患発症のメカニズムの解明や、DNA ウイルス感染に対する新しい治療法、予防法の開発につながるものと期待される。

平成 23 年 1 月 12 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：土田 哲生

論文題目：The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA

(ユビキチンライゲース TRIM56 による、二本鎖 DNA に対する自然免疫反応の制御)

審査委員：主審査委員

白石 正



副審査委員

高田 善彦



副審査委員

北中 千史



審査終了日：平成 23 年 1 月 11 日

【 論文審査結果要旨 】

自然免疫は、微生物感染等に対する防御機構に深く関与している。これまで DNA ウイルスに対する感染認知機構およびそのシグナル伝達経路は明らかとされてきたが、RNA ウイルス感染を感知する細胞内の DNA 認識機構およびその下流にあるシグナル伝達経路については明らかにされていない。この DNA 認識機構は、病原体由来の DNA を認識するのみならず、アポトーシス細胞から漏出した宿主由来の自己 DNA を認識し、自己免疫疾患と関連があると考えられる。そこで、dsDNA 刺激によって誘発される自然免疫応答に関わる新規分子の検索とその機能を解析した論文である。解析の結果、以下の点が明らかとなった。

- 1.dsDNA 刺激による Interferon β (INF) プロモーター活性化を増強する新規分子として TRIM56 を同定した。
- 2.TRIM56 は I 型 INF 刺激により発現が誘発された。
- 3.TRIM56 をマウス繊維芽細胞へ過剰発現させると、INF プロモーター活性が亢進し、TRIM56 をノックアウトすると INF プロモーター活性が減弱した。
- 4.TRIM56 と Stimulator of interferon genes (STING:INF 産生関与シグナル伝達分子) の共存は、STING の作用を増強した。
- 5.TRIM56 と STING の会合は、STING の 150 番目のリシン残基に K63 リンク型ポリユビキチン鎖を結合させることが明らかとなった。
- 6.STING のユビキチン化を阻害すると、STING の二量体形成が障害され、STING の TBK1 を介する I 型 INF 産生が障害された。

以上から、新規分子 TRIM56 は STING-K150 をユビキチン化することで dsDNA 刺激による IFN 産生を制御することを明らかとしたものである。本審査委員会では、博士論文にふさわしいと判断し、合格とした。