（続紙 1 ）

京都大学	博士（生命科学）	氏名	髙松　詩穂理
論文題目	抗ウイルスシグナルのアダプター分子IPS-1の多量体化誘導系を用いた機能解析		

（論文内容の要旨）

我々ヒトを含む脊椎動物は、ウイルスや細菌を含めた様々な病原微生物の侵入に対し、すみやかな初期防御を担う自然免疫と、後期に誘導され効果的な防御を行う獲得免疫を協調させて防御を行う。前者の自然免疫は、幅広い病原体に対する迅速で強力な防御として働き、獲得免疫の誘導にも必須である。RIG-I like receptors (RLRs)は細胞質内のウイルス由来RNAを検知して自然免疫応答を開始する受容体ファミリーである。RLRsは下流のアダプター分子であるInterferon-β promoter stimulator-1(IPS-1、別名MAVS、VISA、Cardif)を通じて転写因子であるIRF3やNF-κBなどを活性化し、I型インターフェロン(IFN)や炎症性サイトカインの産生を介して抗ウイルス自然免疫応答を惹起する。IPS-1は膜貫通(transmembrane：TM)ドメインによってミトコンドリアに局在しており、ウイルスを認識し活性型となったRLRsとそれぞれのcaspase activation and recruitment domain (CARD)を通じて結合したのち多量体化し、相互作用分子と複合体を形成して転写因子の活性化を誘導していると考えられているが、そのシグナル伝達機構の詳細は議論の余地が多く残されている。

そこで、今回我々は、IPS-1のシグナル伝達機構の詳細を明らかにするため、IPS-1の多量体形成を薬剤を用いて誘導する実験系を確立した。これを用いた解析により、IPS-1の薬剤依存的な多量体化によって抗ウイルス応答を誘導できることを示した。さらにIPS-1のシグナル伝達に必須な最小領域については多くの報告がなされているが、統一した見解に至っておらず、この実験系を用いてその解明を試みた。その結果、CARDおよびTMドメインを欠損した変異体IPS-1、すなわち細胞質に存在しミトコンドリア膜上の蛋白質との相互作用のない状態においても、強制的な多量体形成下では抗ウイルス応答誘導能を持つことを明らかにした。そこで、下流へのシグナル伝達に必須の領域を特定するため、CARDおよびTMドメイン以外の領域の欠損変異体を同様に解析した。その結果、TMを含まないC端側領域（400~465アミノ酸）をもつような変異体では多量体化依存的にIFN-β及びIL-6の発現が誘導され、この領域に存在するTRAF6の結合モチーフに点変異を導入するとIFN-βおよびIL-6の発現が消失することを見出した。このことは、C端側領域のTRAF6結合モチーフがIPS-1の下流へのシグナル伝達に必須な最小限の領域であることを示唆している。以上の結果から、IPS-1の多量体化の重要性が確認され、そのシグナル伝達機序の一端を明らかにすることができた。さらにこのC端側領域を標的とした相互作用因子の探索を行うことにより未だ解明されていないIPS-1のシグナル抑制因子の特定などに発展することが期待される。

（続紙　２　）

（論文審査の結果の要旨）

本論文は抗ウイルス自然免疫応答においてシグナルアダプター分子として機能するIPS-1の機能解析を行なったものである。ウイルス感染によって細胞内に生じたウイルスRNA（二重鎖構造など、ウイルス特徴的な構造を有する）はセンサー分子であるRIG-Iファミリーのヘリカーゼによって感知され、そのシグナルをIPS-1に伝達する。既にIPS-1はシグナル伝達の結果、凝集体を形成することが報告されている。本論文では人為的にIPS-1の凝集体を細胞内で形成させる系を構築し、凝集体形成が抗ウイルス応答の誘導に十分であることを示した。既報ではIPS-1のCARDドメインと膜貫通ドメインのみでシグナルが誘導されるとされていたが、本研究では強制的に凝集体形成を起こせばこれらドメインは必要ではないことを示し、これらのドメインは生理的条件での凝集体形成を効率よく誘導しているというモデルを提唱した。また、強制凝集させた場合にはIPS-1分子上のTRAF結合モチーフがシグナル伝達に重要であることを示した。これらのことからRIG-IからのシグナルはIPS-1の凝集を誘導し、凝集したIPS-1のTRAF結合モチーフにTRAFなどの分子が会合して更なるシグナルを伝達するという作業仮説を構築した。

以上の成果はRIG-I, IPS-1による抗ウイルス自然免疫応答の活性化の理解に関して新たな知見を加えるものである。従って本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

平成２５年１月２９日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日