

京都大学	博士（医学）	氏名	船 曳 正 英
論文題目	Autoimmune Disorders Associated with Gain of Function of the Intracellular Sensor MDA5 (細胞内ウイルスセンサーMDA5の機能獲得型変異は自己免疫疾患を誘発する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>細胞内ウイルスセンサーMDA5は、ピコルナウイルス科を含むウイルス感染時において、ウイルス由来二本鎖RNA(double-stranded RNA; dsRNA)を認識し抗ウイルス自然免疫応答を誘導する。一方、同分子は自己免疫疾患への関与が近年示唆されてきた。しかし、MDA5がどのように自己免疫疾患に関与しているのか、その機構は未だ明らかにはなっていない。本研究では、MDA5点突然変異が過剰な免疫応答を誘導し、自己免疫疾患を誘発する機構をマウスモデルにおいて明らかにした。</p> <p>同マウスはENU-mutagenesis法によって樹立されたもので、ループス腎炎様の糸球体腎炎を発症するマウス系統が樹立され、後の遺伝子マッピングでMDA5に単一のアミノ酸変異(G821S)を持つことが判明した。MDA5は下流シグナル伝達時にアダプター分子であるMAVSを介し、I型インターフェロン(IFN)およびNF-κB依存的炎症性サイトカインの産生を誘導することが知られている。そこでMAVSを欠損させたMDA5変異マウスを作成しMDA5依存的シグナルの病態への関与を検討したところ、MAVS欠損MDA5変異マウスでは糸球体腎炎および各臓器におけるI型IFN、サイトカインの産生が消失することが確認され、MDA5-MAVSシグナル伝達経路が同マウスの病態に必須であることが明らかとなった。一方、I型IFN受容体を欠損させたMDA5変異マウスでは、糸球体腎炎の程度は軽快するものの依然として腎炎が惹起されたことから、I型IFNと共にNF-κB依存的炎症性サイトカインも病態へ関与していることが推測された。同じ変異体の抗ウイルス応答について、マウス胎児線維芽細胞を用いて検討したところ、変異型ではMDA5のリガンドであるdsRNAに対する応答性を喪失していた。一方、リガンド非存在下において、I型IFNプロモーター活性の誘導性を強制発現系を用いて検討したところ、変異型は野生型よりも強いI型IFNプロモーター活性を誘導したことから、変異型は恒常活性型変異であることが明らかとなった。一般的にMDA5の活性化機構については、リガンド認識に際して分子の立体構造を変化させ、シグナル伝達領域であるCARDを露出させることで、続くMAVS以下のシグナル伝達が行われるものと考えられている。そこで、野生型および変異型MDA5分子構造を検討するために、リコンビナントタンパクを精製し原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope; AFM)を用いて形態観察を行った。野生型分子は2つから3つの分節状構造を取るのに対して、変異型分子は球状構造を呈しており、この構造的な相違が変異体の恒常活性を誘導している可能性が示唆された。さらに、全身性エリテマトーデス(SLE)との関連が示唆されているヒトMDA5の一塩基多型であるA946T変異についても同様に、I型IFNプロモーター活性誘導性およびAFMを用いた分子形態の検討を行った。強制発現系においてA946T変異型は野生型よりも強いI型IFNプロモーター活性を誘導し、またAFMによる分子形態観察では球状構造を呈していたことから、A946T変異はG821S変異と類似した性質を持つことが明らかとなった。</p> <p>本研究ではMDA5変異が自己免疫疾患を誘発する機構について、マウスモデルを用いて明らかにし、さらにSLEとの関連が示唆されているA946T変異の性質を明らかにした。これらの結果は、MDA5依存的な自己免疫疾患に対する予防や新たな治療法への可能性を示唆すると同時に、異常な自然免疫応答が自己免疫疾患を誘発する可能性を示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

細胞内ウイルスセンサーMDA5は、抗ウイルス自然免疫応答を誘導する一方、自己免疫疾患への関与が示唆されてきた。本研究では、MDA5点突然変異が自己免疫疾患を誘発する機構を明らかにした。

ENU-mutagenesis法によってループス腎炎様の糸球体腎炎を自然発症するマウス系統が樹立され、MDA5に単一のアミノ酸変異(G821S)を持つことが確認された。腎炎症状はアダプター分子であるMAVSに依存し、MDA5-MAVSシグナル伝達経路が同マウスの病態に必須であることを明らかにした。一方、I型インターフェロン(IFN)受容体を欠損させたMDA5変異マウスを使用した解析により、I型IFNは病態に部分的に関与することが判明した。*in vitro*の実験系で、同変異はリガンド非存在下で野生型より強いI型IFNプロモーター活性を誘導する恒常活性型変異であることを明らかにした。また、分子形態を原子間力顕微鏡にて観察したところ、野生型分子と変異型分子には分子形態の違いが認められた。さらに全身性エリテマトーデスとの関連が示唆されているヒトMDA5 A946T変異についても同様の検討を行い、A946T変異はG821S変異と類似した性質をもつことを明らかにした。

以上の研究は自己免疫疾患へのMDA5の関与を明らかにすることに貢献し、自己免疫疾患の病態解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成26年4月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降