

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	應田 涼太
論文題目	RIG-I によって誘導される microRNA の機能解析		
(論文内容の要旨)			
ウイルス感染に対する宿主免疫応答はウイルスを宿主から排除し、ウイルスによって引き起こされる様々な病気から身を守るために重要である。哺乳類においては自然免疫と獲得免疫がウイルス感染に対して主要な役割を果たしている。特に自然免疫はウイルス感染初期に重要な役割を果たしており、自然免疫系が活性化されることにより抗ウイルスタンパク質である I 型インターフェロン(IFN)が誘導される。自然免疫応答を誘導するためにはウイルス感染を検知することが不可欠となってくるが、細胞質内に存在する RIG-I-like receptors(RLRs)がウイルス由来の RNA を認識するセンサーとして役割を果たしている。 一方で近年、non-codingRNA の一つである microRNA(miRNA)が転写後調節として遺伝子発現を精巧に調節し、様々な局面での生体機能維持に必要不可欠であることが明らかとされてきている。しかし、RIG-I シグナルを介してどのような miRNA の発現が制御され、またそれらが生体防御にどのように関与しているかはほとんど明らかとはなっていない。そこで本研究では RIG-I シグナルによって制御を受ける miRNA の探索と、それらの miRNA と抗ウイルス作用との関係について検討を行った。まず申請者は、薬剤を用いて人工的に RIG-I シグナルを細胞へ導入することができる実験系を用い、RIG-I 活性化による miRNA の発現量の変化を miRNA マイクロアレイ法によって網羅的に解析した。その結果、37 種類の miRNA が RIG-I シグナルによって発現量が上昇していた。その中でも、miR-23b はバイオインフォマティックスの手法(microRNA.org)を用いた標的候補遺伝子の検索からある種のウイルスが宿主細胞に感染する際に結合する受容体として知られている very low density lipoprotein receptor(VLDLR)を標的としている可能性が示唆された。そこで miR-23b に着目し、抗ウイルス作用の検討を行った。また、miR-423-3p は RIG-I 活性化 3 時間、6 時間、9 時間、12 時間後すべての時間において発現量が上昇していたため以下に示す機能解析を行った。 miR-23b の抗ウイルス作用を検討するために、miR-23b を細胞内に過剰発現させ様々なウイルス感染を行ったところ rhinovirus(RV)1B に対して特異的に抗ウイルス作用を示すことが明らかとなった。さらには、RV RNA を強制的に細胞内へ導入させた場合では miR-23b 過剰発現による RV RNA 量の減少は見られなかった。これらの結果は miR-23b は RV の複製に影響するのではなく、RV1B の宿主細胞内への侵入を阻害していることを強く支持するものである。 一方、miR-423-3p の標的遺伝子を探索したところ Poly(A)-binding protein 1 (PABP1)が標的候補遺伝子であることが明らかとなった。PABP1 は stress granules (SGs)構成因子の一つであることが知られており、申請者の所属する研究室では SGs が RIG-I シグナルを誘導するために重要な部位であることを報告している。そのため、PABP1 は RIG-I シグナル制御に関わっている可能性があることが示唆された。PABP1 過剰発現またはノックダウン実験から PABP1 は IFN-β 発現を負に制御していることが明らかとなった。この結果より、RIG-I シグナルによって誘導された miR-423-3p は PABP1 の発現を制御することによって IFN-β 発現量を調節していることが強く示唆された。 以上の結果は、これまで知られていた IFN による IFN 誘導遺伝子群(ISGs)を介した抗ウイルス作用に加え、RIG-I 誘導 miRNA による新たな抗ウイルス作用機序を示すものである			

(論文審査の結果の要旨)

本論文はウイルス RNA センサー、RIG-I の活性化の結果誘導される microRNA の機能の解析を行なったものである。申請者はウイルス感染、あるいは人為的に RIG-I を凝集体形成によって活性化した際に発現誘導される microRNA を網羅的に検索し、30 種あまりの microRNA を同定した。そのうち miR-23b と miR-423-3p に注目し、抗ウイルス自然免疫における機能の解析を行なった。

miR-23b は rhinovirus1B に対して選択的に抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった。一連の解析の結果、miR-23b は rhinovirus1B の侵入に必要な受容体である VLDLR を標的とし、その発現を減少させることによってウイルスの増殖を抑制していることが強く示唆された。

miR-423-3p は RIG-I シグナルによって最終的に活性化されるインターフェロン (IFN) - β 遺伝子の発現を負に制御していることが明らかとなった。

以上の結果は従来公知であった、ウイルス感染によって IFN 誘導遺伝子群が誘導され、それらがウイルスの増殖を抑制するという機構に加えて、microRNA を介して抗ウイルス作用を示すという新たな機構を示したものである。

以上の成果は RIG-I 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 28 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