

京都大学	博士（医学）	氏名	藤田晴之
論文題目	The tyrosine kinase inhibitor dasatinib suppresses cytokine production by plasmacytoid dendritic cells by targeting endosomal transport of CpG DNA		
(論文内容の要旨)			
形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cells; pDC)は、Toll-like receptor (TLR)7, TLR9 を介してウイルス由来の核酸を認識し、きわめて大量のインターフェロン(IFN)-αを産生することにより、抗ウイルス免疫において重要な役割を果たす特異な免疫担当細胞であるが、この大量の IFN-α 産生を引き起こす分子メカニズムは明らかでない。また、pDC は自己細胞由来の核酸も認識して IFN-α を産生することにより、全身性エリテマトーデスや尋常性乾癬といった炎症性疾患の発症・進展に重要な役割を果たす。したがって、pDC の機能を抑制することが、これらの疾患の新規治療につながる。慢性骨髄性白血病に対するチロシンキナーゼ阻害薬ダサチニブは、ABL キナーゼのみならず、免疫反応の制御に働く SRC ファミリーキナーゼ(SFK)など広範なキナーゼを阻害する。そこで、ダサチニブが pDC の機能に及ぼす影響を検討した。 その結果、ダサチニブは、TLR9 リガンド CpG DNA (CpG-A)の刺激を受けた pDC による IFN-α の産生を、他の ABL キナーゼ阻害薬イマチニブ、ニロチニブに比べ、低濃度から強力に抑制し、この抑制は細胞死を伴わなかった。また、SFK 阻害剤でも IFN-α の産生が抑制された。この抑制機序を検討したところ、ダサチニブは CpG DNA の取り込みを阻害しなかったが、CpG DNA 刺激により誘導されるチロシンリン酸化を阻害した。また、このリン酸化は SFK 阻害剤でも抑制されたが、TLR9 より下流のシグナル伝達を阻害するクロロキンでは抑制されなかった。したがって、ダサチニブと SFK 阻害剤は、CpG DNA が細胞内に取り込まれたあと、TLR9 とエンドゾーム内で会合するまでの経路を阻害すると考えられた。pDC に取り込まれた CpG DNA が早期エンドゾームに滞留して TLR9 にシグナルを送り続けることが、大量の IFN-α 産生を誘導すると報告されているため、ダサチニブと SFK 阻害剤が CpG DNA のエンドソーム輸送に及ぼす影響を共焦点顕微鏡で解析した。その結果、ダサチニブ存在下では CpG DNA は早期エンドソームに滞留せず、速やかに後期エンドゾームへ移動するのに対し、SFK 阻害剤は CpG DNA の早期エンドゾームへの滞留を阻害しなかった。 以上より、ダサチニブは SFK 依存性および非依存性のシグナルを阻害して、TLR9 より上流のイベントを抑制することにより、pDC のサイトカイン産生を抑制すると考えられた。このうち、SFK 非依存性のシグナルが CpG DNA の早期エンドゾームへの滞留を引き起こし、ダサチニブはこの経路の責任キナーゼを阻害することにより、CpG DNA の後期エンドゾームへの移動を促進することが示唆された。この結果は、① pDC における特異なエンドソーム輸送の分子メカニズムの解明に道を開くとともに、② pDC の小胞輸送を標的とした新規抗炎症薬の開発につながると考えられる。			

（論文審査の結果の要旨） 形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cells; pDC)は、Toll-like receptor (TLR)を介してウイルス由来の核酸を認識し大量のインターフェロン(IFN)-αを産生することによって抗ウイルス免疫に働く一方、特定の条件下では自己細胞由来の核酸に反応して炎症性疾患を引き起こす。pDC の IFN-α産生メカニズムを明らかにし、炎症性疾患の治療標的を見いだすために、SRC ファミリーキナーゼ(SFK)など広汎なチロシンキナーゼを阻害する慢性骨髄性白血病治療薬ダサチニブが pDC の機能に及ぼす影響を調べた。 ダサチニブ、SFK 阻害剤ともに、TLR9 リガンド CpG DNA が TLR9 とエンドゾーム内で会合するまでの経路を阻害することにより、pDC による IFN-αの産生を抑制した。さらに作用点を検討したところ、ダサチニブは大量の IFN-α 産生に必須とされる CpG DNA の早期エンドゾームへの滞留を阻害するのに対し、SFK 阻害剤は阻害しなかった。したがって、ダサチニブは SFK 依存性及び非依存性に pDC の IFN-α産生を抑制し、後者のメカニズムにより CpG DNA の早期エンドゾームへの滞留を阻害すると考えられた。 以上の研究は、pDC における特異なエンドソーム輸送の分子メカニズムの解明に道を開くとともに、pDC の小胞輸送を標的とした新規抗炎症薬の開発につながると考えられる。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 25 年 2 月 4 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			