

京都大学	博士（医学）	氏 名	村 上 孝 作
論文題目	Follistatin-related protein/follistatin-like 1 evokes an innate immune response via CD14 and toll-like receptor 4 (ホリスタチン関連タンパク質は CD14 と Toll 様受容体 4 を介して自然免疫反応を惹起する)		
(論文内容の要旨)			
ホリスタチン関連タンパク質(FRP)は分泌タンパクであり、TGF-β スーパーファミリータンパクとの相互作用により臓器の分化形成に関わる。また FRP は関節リウマチの自己抗原であり、マウス実験関節炎の抑制あるいは促進作用、ラット実験心移植の生着改善作用など、免疫系での作用の報告もある。しかし、免疫系での作用は炎症の促進か抑制か一定せず、また分子レベルでの作用機序も不明であった。 これまでの研究より、FRP が CD14 と結合する知見が得られていた。CD14 は膜タンパクであり、自然免疫反応に関わる Toll 様受容体 4 (TLR4) の共役受容体で、それ自身 TLR4 リガンドに結合する。よって FRP が TLR4 シグナルに関わる事が予想された。そこで、FRP が CD14 と TLR4 を介して自然免疫反応を惹起する可能性を検討した。 ヒト FRP はヒト培養関節滑膜細胞の IL-6 産生を促進し、マウス FRP はマウス線維芽細胞株 NIH-3T3 の IL-6 産生を促進したが、この場合ヒト FRP ではその作用が弱かった。マウス関節炎モデルでは、マウス FRP を高発現させた II 型コラーゲン特異的 T 細胞を移入すると、関節炎は増悪した。しかし、ヒト FRP を高発現させた場合はむしろ関節炎が減弱した。従って、これら FRP の作用にはリガンド・レセプタータンパク間の種特異性が存在すると考えられた。また IL-6 を恒常的に産生するヒト滑膜細胞株 SF-1 で、FRP をノックダウンすると IL-6 産生は低下し、さらに外部からヒト FRP を加えると IL-6 産生が回復した。 野生型マウス由来の脾細胞では、添加したマウス FRP の濃度に依存して IL-6 産生が増加するのに対し、TLR4 ノックアウトマウス由来の脾細胞では無反応であった。そして TLR4 シグナルに必要な 3 分子、CD14、MD2、TLR4 を発現させたヒト 293 細胞では、添加したヒト FRP の濃度に依存して IL-8 産生が増加するのに対し、CD14 を除く 2 分子、MD2、TLR4 のみを発現させたヒト 293 細胞では無反応であった。さらに FRP による IL-6 や IL-8 産生増加は、NF-κB レポーターアッセイにより、NF-κB の活性化によることも確認された。また FRP は、リポ多糖(LPS)と同様に TLR4 シグナルのトレランスを誘導した。 以上の成績は FRP の作用が CD14 および TLR4 に依存することを示している。免疫系における FRP の作用は、炎症反応に関して一義的なものではなく、自然免疫領域では炎症反応を促進し、この場合の受容体が CD14 を介した TLR4 であることを解明した。FRP は関節リウマチの自己抗原の一つであり、内因性 TLR4 リガンドとして関節リウマチの病態形成に関与する可能性が示唆された。			

（論文審査の結果の要旨） 関節リウマチの自己抗原である FRP はこれまで免疫系での作用や分子レベルでの作用機序について十分な解明がなされていなかったが、FRP が CD14 と結合する知見が得られていたことから、FRP が CD14 と TLR4 を介して自然免疫反応を惹起する可能性が検討された。ヒト FRP はヒト培養関節滑膜細胞の IL-6 産生を促進し、マウス FRP はマウス線維芽細胞株 NIH-3T3 の IL-6 産生を促進した。マウス関節炎モデルでは、マウス FRP を高発現させた II 型コラーゲン特異的 T 細胞を移入すると関節炎は増悪した。さらに、これら FRP の作用にはリガンド・レセプタータンパク間の種特異性が存在することも示唆された。野生型マウス由来の脾細胞では、添加したマウス FRP の濃度に依存して IL-6 産生が増加するのに対し、TLR4 ノックアウトマウス由来の脾細胞では無反応であった。また、293 細胞は CD14、MD2、TLR4 を発現させた場合のみ FRP の濃度に依存して IL-8 産生が増加した。さらに、FRP は、リポ多糖(LPS)と同様に TLR4 シグナルのトレランスを誘導した。以上の結果は FRP の作用が CD14 および TLR4 に依存することを示している。従って、免疫系における FRP の作用は、炎症反応に関して一義的なものではなく、自然免疫領域では炎症反応を促進し、この場合の受容体が CD14 を介した TLR4 であることが明らかとなった。 以上の研究は FRP における自然免疫応答への役割の解明に貢献し、関節リウマチをはじめとした慢性炎症性疾患の病態を明らかにするための研究の進歩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有るものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 2 月 20 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			