

## 論文審査の結果の要旨

氏名 大村 洋記

本論文は、自然免疫系において病原体由来の分子を特異的に認識する細胞質受容体である DDX41 及び STING の構造機能解析について記述されている。本論文は、General Introduction, 第 1 章「Structural and Functional Analysis of DDX41: a bispecific immune receptor for double-stranded DNA and cyclic dinucleotide」, 第 2 章「Structural Analysis of the Constitutively Active Mutant of STING」, 及び General Discussion から構成されている。

General Introduction では自然免疫系で働く受容体に関しての導入が述べられている。自然免疫系では、受容体が病原体由来のリガンドを特異的に認識してインターフェロン・炎症性サイトカイン産生を誘導し、ウイルスや細菌などの病原体への防御反応を惹起する。これらの受容体は一般的に、それぞれ1種類のリガンドを特異的に認識するという特徴があり、これは宿主と病原体を区別して病原体を特異的に攻撃するために重要な機構であると考えられる。この特異性が崩れると、SAVI など自己炎症性疾患を引き起こす。本論文において、著者は二本鎖 DNA・環状ジヌクレオチドの 2 種類のリガンドを認識するという特徴を持つ受容体 DDX41 の構造機能解析、及び自己炎症性疾患 SAVI を引き起こす STING の恒常活性型変異体の構造解析を行った。

第一章で、著者は DDX41 の二本鎖 DNA・環状ジヌクレオチドの認識に重要である DEAD ドメインのアポ状態の 2 種類の構造を、それぞれ 1.5 Å と 2.2 Å の分解能で決定した。2 種類の結晶構造の比較から、DDX41 の ATP 結合部位には可塑性があり、ATP との結合時に結合ポケットが形成されることが示唆された。構造を基にした *in vitro* の機能解析により、DDX41 は同一の結合部位を介して二本鎖 DNA と環状ジヌクレオチドの両者を認識すること、またこの結合部位は ATP 結合部位とは異なることが示唆された。著者は ATP 結合部位の構造変化が ADP の解離に重要であり、これによって DDX41 はリガンドとの結合のターンオーバーを行っているというモデルを提唱した。更に、DDX41 の DEAD ドメインによるリガンド認識は HELICc ドメインによって阻害されており、*in vivo* では未知のコファクターや修飾によって阻害を解除する機構が存在することが示唆された。

第二章で、著者は自己炎症性疾患 SAVI を引き起こす STING 可溶性ドメインの V155M 変異体の結晶構造を、2.8 Å の分解能で決定した。得られた構造から、V155M 変異体は WT と同様に 1 つのプロトマーが 2 回対称に配置したホモダイマーを形成することが判明した。変異体と WT との構造比較により、WT では Val155 が対向する Met271 と離れているのに対し、よりかさ高い Met155 は Met271 を押し出し、この Met271 の動きによって WT と比較して変異体ではダイマーが内向きに閉じることが示された。この V155M 変異体は WT のリガンド非結合状態と結合状態の間であることから、変異体は常にリガンド結合した活性化状態をミミックすることで、恒常的な活性を得ていることが示唆された。

General Discussion では、第一章・第二章を統括して考察が述べられている。

本論文では、DDX41 のリガンド認識に関与する DEAD ドメインの結晶構造が決定され、その立体構造情報に基づいた機能解析が行われた。更に STING の恒常活性型変異体の結晶構造が決定された。これらの構造機能解析により、DDX41 による特異的なリガンド認識機構、及びリガンド特異性を失った STING が自己炎症性疾患を引き起こす機構への理解を大きく進展させるものである。論文は明瞭に記述されており、確かな実験データと先行研究に基づき論じられている。なお、本論文の第一章は、及川大輔、中根崇智、加藤めぐみ、石井亮平、石谷隆一郎、徳永文穂、濡木理との共同研究であるが、論文提出者が主体となり研究が遂行されており、その寄与は十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。