

1. 課程博士

2. 阿部 芙美子 (あべ ふみこ)

3. 博士 (薬学)

4. 博薬 第 号

5. 平成26年 3月 24日

6. 核酸認識型 Toll様受容体を介したサイトカイン産生における低分子量Gタンパク質 Ar18  
の機能解析

7. (主査) 東京大学	教授	堅田 利明
	教授	一條 英憲
	教授	清水 敏之
	特任准教授	東 伸昭
	特任准教授	田口 友彦

8. 阿部芙美子審査結果.pdf

Adobe Acrobat

Win2007

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 阿部 芙美子

Toll 様受容体 (TLR) ファミリーは病原体の様々な構成成分を認識し、自然免疫による生体防御機構を作動させる。このファミリー中で TLR7 および TLR9 は、形質細胞様樹状細胞においてウイルス等の核酸を認識し、多量の I 型インターフェロンの産生を誘導する。また、TLR7 および TLR9 は自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス等の発症にも関与すると考えられており、これらの受容体を介したシグナル伝達の厳密な制御が、個体の機能維持において重要である。「核酸認識型 Toll 様受容体を介したサイトカイン産生における低分子量 G タンパク質 Arl8 の機能解析」と題した本論文では、細胞内で TLR7 と共局在する可能性が示された Arl8 が、形質細胞様樹状細胞において TLR7 を介したサイトカイン産生に関与していることを新たに見出している。

### 1. Arl8 は TLR7/Unc93B1 と共沈降し、TLR7 と共局在する

これまでに線虫や動物細胞を用いた所属研究室における解析から、低分子量 G タンパク質 Arl8a および Arl8b が後期エンドソーム・リソソームに局在することが見出されていた。今回新たにこの Arl8a および Arl8b は、TLR7/Unc93B1 複合体と共免疫沈降することが見出された。また免疫染色法により、細胞内で TLR7 は Arl8a/b 陽性小胞上に局在していることが示された。

### 2. Arl8b は TLR7 を介するサイトカインの産生に必要である

本研究では、主に Arl8b ジーントラップマウスを用いて、TLR7 を介した細胞応答における Arl8b の機能が解析された。マウス骨髄より分化誘導して得られた形質細胞様樹状細胞に対して、TLR7 のリガンドである ssRNA による刺激が行われた。その結果、Arl8b ジーントラップの細胞では、炎症性サイトカインの IL-12 p40 や I 型インターフェロンである IFN $\alpha$  の産生が、野生型よりも減弱している様子が見出された。このことから、TLR7 を介した正常なサイトカイン産生に Arl8b が必要であることが明らかとなった。

### 3. Arl8b は TLR7 を介した mTOR 経路の活性化に必要である

野生型と Arl8b ジーントラップマウス由来の形質細胞様樹状細胞における、TLR7 の下流の各シグナル伝達因子の活性化状態について検討が行われた結果、Arl8b はセリン・スレオニンキナーゼである mTOR 経路の活性化に関与している可能性が見出された。一方、p38 MAPK 経路の活性化は、野生型と Arl8b ジーントラップマウスとで同程度であったことから、Arl8b は TLR7 と ssRNA との結合や p38 MAPK 経路の活性化には関与しない可能性が考えられた。

### 4. Arl8b ジーントラップマウスではプリスタン誘導性の腹膜炎が抑制される

Arl8b が、TLR7 や IFN $\alpha$  を必要とする生体内現象に関与する可能性について、個体レベルでも検証が行われた。アジュバンドの一種であるプリスタンをマウス腹腔内に投与し、腹腔内に浸潤する炎症性単球の量が定量された。この炎症性単球は、I 型インターフェロンを産生して慢性的な腹膜炎を引き起こすことが知られている。炎症性単球の浸潤は、TLR7 欠損ウスや IFN $\alpha$  受容体欠損マウスにおいては抑制されるが、Arl8b ジーントラップマウスにおいても、野生型マウスと比べて浸潤が顕著に抑制されていた。したがって、マウス個体においても、Arl8b が TLR7 を介したサイトカインの産生に関与している可能性が示唆された。

本論文から、1) Arl8 が TLR7/Unc93B1 と共沈降し、TLR7 は後期エンドソーム・リソソーム上で Arl8 と共局在すること、2) 形質細胞様樹状細胞においては、TLR7 を介した正常なサイトカイン産生に Arl8b が必要であることが示された。さらに、3) Arl8b は TLR7 下流の mTOR 経路の活性化に介在している可能性が見出された。また、4) マウス個体レベルの検討においては、Arl8b はプリスタン誘導性の腹膜炎に関与することが示唆された。プリスタンを投与された野生型マウスは、慢性腹膜炎発症した後、数カ月後には自己免疫疾患を発症することが知られる。今後、Arl8b を介した TLR7 のシグナル伝達機構の解明が進むことで、全身性自己免疫疾患の新規治療薬の標的が発掘される可能性も期待される。

以上を要するに、本論文は博士（薬学）の学位として十分な価値があるものと認められる。