

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 幡井 裕乙

本研究は、免疫機構において重要な役割を果たしていると考えられる Toll-like receptor 11 (TLR11)の役割を明らかにするため、TLR11 がそのリガンドであるフラジェリンやプロフィリンを認識するメカニズムの解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 様々な細胞株 (HEK-293T 細胞株、Hela 細胞株、Neuro2a 細胞株)で、Flag タグ標識 TLR11(TLR11-FLAG)を過剰発現させ、ウエスタンブロットで解析した結果、全長 TLR11(FL TLR11)と切断後 TLR11(Cleaved-TLR11)の 2 種類の TLR11 の存在を確認できた。更に、この Cleaved-TLR11 の産出がカテプシン阻害剤添付により抑制されることから、TLR11 の切断はカテプシンによるものであることが示唆された。
2. TLR11 が 2 種のリガンドを認識するメカニズムは不明である。そこで、1.の細胞株を用いて TLR11-FLAG を過剰発現させ、Pull-down assay で、TLR11-FLAG とフラジェリンおよびプロフィリンとの結合の様子を評価した。結果、Cleaved-TLR11 はフラジェリンにのみ強く会合した。このことから、TLR11 はカテプシン依存の切断により会合するリガンドを変えていることが示唆された。これは TLR の切断における役割としては新規のものである。
3. TLR11-FLAG とフラジェリンの会合は、中性環境下と比べ、弱酸性環境下で劇的に促進された。一方、TLR11-FLAG とプロフィリンの結合、及び同様にフラジェリン受容体である TLR5-FLAG とフラジェリンの会合は両環境下で大きく変化しなかった。これらのことから、TLR11 によるフラジェリン認識は、TLR11 によるプロフィリン認識や TLR5 によるフラジェリン認識と異なり、弱酸性環境下が至適であることが示唆された。
4. TLR11 がそれぞれのリガンドの結合に利用するドメインを検討するため、mutagenesis 法を用いて変異 TLR11 を多数作製した。それぞれのリガンドと、変異 TLR11 との結合を評価した結果、TLR11 内の複数のアミノ酸およびドメインが、プロフィリンとの会合には重要であるが、フラジェリンとの会合には影響を与えないことが示された。このことから、TLR11 はそれぞれのリガンドに会合するために異なるアミノ酸ドメインを用いていることが示唆された。

以上、本論文は TLR11 が 2 種の異なるタンパク質リガンドを選択的に認識するメカニズムの存在を示し、その認識には化学的条件や、TLR11 のドメインが重要であることを明らかにした。本研究は、TLR11 のリガンド認識機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。