

論文の内容の要旨

論文題目 抗 TLR3 単クローン抗体を用いた TLR3 応答制御機構の解析

氏名 村上祐輔

マウス Toll 様受容体 3 (マウス TLR3) は、ウイルス由来の二重鎖 RNA や、傷害を受けた細胞由来の自己 RNA を認識し、I 型インターフェロンや炎症性サイトカインの産生を誘導し、抗ウイルス活性など免疫系を活性化する。TLR3 は、平常時、多重膜貫通タンパク質である Unc93B1 によって、小胞体からエンドライソソームに運搬される。このエンドライソソームで、カテプシンファミリーのようなタンパク分解酵素による切断を受け活性化型 TLR になることが報告されているが、切断後の N 末端側の断片 (TLR3N) がそのまま分解されるのか、リガンド認識を行う際に C 末端側の断片 (TLR3C) と会合しリガンド認識において協調するのは相反する報告がされてきた。また、細胞内局在に関して、ヒト TLR3 ではエンドライソソームに加えて、線維芽細胞株では細胞表面に発現していること、また単球から誘導された樹状細胞 (iDC) では細胞表面に発現していないことが報告されてきた。以上のように、リガンド認識における TLR3N の役割やマウスにおける免疫細胞表面の TLR3 の発現の有無は、TLR3 の正確な切断部位が明らかになっていなかったこと、核酸認識受容体が細胞表面にあることは自己の RNA を無制限に認識してしまうと考えられていたこと、また TLR3 を検出するための質の高い抗体が無かったことから、ほとんど検討されておらず未知な部分が多かった。しかしながら、

TLR3 のリガンド認識機構を深く理解することは、ウイルス感染に対する知見だけでなく、自己の RNA 認識をいかに制御し恒常性を保っているのかを知るうえで非常に重要なことであると考え本研究を行うこととした。まず私は、マウス TLR3 の切断部位を同定し、リガンド認識における TLR3N の必要性を確認した。マウス TLR3 の切断部位は、TLR3C の N 末端アミノ酸シーケンスにより同定した。続いて、TLR3N と TLR3C は切断後も定常状態から会合し、リガンド刺激による NF- κ B と IFN- β の活性化には、TLR3N と TLR3C の両方が必要なことが分かった。次に、新たに樹立したマウス TLR3 単クローン抗体、CaT3 と PaT3 を用いてマウス免疫細胞表面に TLR3 が局在するのかを検討した。結果、マウス脾臓より回収した CD8 α 陽性 DC と辺縁部 B 細胞の表面に、TLR3 が強く発現していることが分かった。これらの細胞表面 TLR3 は、TLR3 を含む一部の TLR 輸送分子である Unc93B1 に依存的に発現していることが分かった。また、骨髄から誘導されたマクロファージは比較的弱く細胞表面に TLR3 を発現しているが、この細胞に PaT3 を処置すると二重鎖 RNA に対する応答を増強することが分かった。これらの結果は、二重鎖 RNA の認識に TLR3N と TLR3C の複合体が必要なこと、また単クローン抗体を用いた TLR3 の免疫応答制御に、細胞表面 TLR3 が重要な標的であることを示唆していた。この新たな標的に対する知見は、抗ウイルス治療だけでなく、TLR3 活性化による IL-12 の誘導を介した抗腫瘍活性にも応用できる可能性があるため、今後のさらなる研究発展が期待できる。