

Title	Role of Adaptor TRIF in the MyD88-Independent Toll-like Receptor Signaling Pathway
Author(s)	山本, 雅裕
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/46308
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	山本 雅裕
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20178 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Role of Adaptor TRIF in the MyD88-Independent Toll-Like Receptor Signaling Pathway (Toll 様受容体を介する MyD88 非依存的経路におけるアダプター分子 TRIF の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 審良 静男 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

[目 的]

様々な病原微生物の構成成分が Toll 様受容体 (TLR) に認識され、炎症性サイトカインの産生や細胞増殖反応、共刺激分子の発現上昇など種々の宿主免疫応答が引き起こされる。その活性化シグナルは TLR の細胞内領域であるインターロイキン-1 (IL-1) 受容体と相同性を有する TIR ドメインから、TIR ドメインを有する細胞内アダプター分子 MyD88 を介して下流へと伝達される。MyD88 欠損マウスの解析から、ほとんど全ての TLR を介するシグナル伝達経路が MyD88 依存的であることが示唆されたが、TLR3 や TLR4 リガンドによる刺激に対し MyD88 欠損細胞がインターフェロン (IFN)- β 及び IFN 誘導性遺伝子群などを依然として産生することから、TLR3 や TLR4 を介するシグナル伝達経路には MyD88 に依存しない経路 (MyD88 非依存的経路) が存在することが示唆された。我々は MyD88 非依存的シグナル伝達経路にも TIR ドメインを有するアダプター分子が関与すると考え、データベース検索することで TRIF を発見した。そして、TRIF の TLR を介する MyD88 非依存的経路における生理的意義を解明するために TRIF 欠損マウスを作製しその表現型を解析した。

[方法ならびに成績]

定法に従い、マウス TRIF 遺伝子をネオマイシン耐性遺伝子に置換することで TRIF 欠損マウスを作製した。

まず、TRIF 欠損マウスより腹腔内マクロファージを採取し、TLR3 リガンドである Poly (I : C) 刺激による IFN- β 及び IFN 誘導性遺伝子群の発現をノザンプロット法により検討したところ、野生型細胞と比べて TRIF 欠損マクロファージではそれらの発現が著しく減弱していた。また、Poly (I : C) 刺激による脾臓細胞の増殖反応および共刺激分子の発現上昇は TRIF 欠損細胞では野生型細胞に比べて有意に低下していた。

次に、TLR4 リガンドであるリポ多糖 (LPS) 刺激による炎症性サイトカインの産生及び脾臓細胞の増殖反応と共刺激分子の発現を検討したところ、TRIF 欠損細胞では野生型細胞と比べて顕著に減少していた。また、LPS 刺激による IFN- β と IFN 誘導性遺伝子群の産生も TRIF 欠損細胞ではほとんど認められなかった。しかし、TLR3 と TLR4 以外のリガンド刺激によるそれらの反応は全く障害を受けていなかった。

細胞内シグナル伝達分子の活性化について、TLR3 及び TLR4 を介する IFN- β 遺伝子発現に必須の転写因子である IRF-3 の活性化を Native-PAGE 法により検討したところ、TRIF 欠損細胞では IRF-3 の活性化の指標となる二量体が全く認められなかった。また NF- κ B の活性化をゲルシフトアッセイにて検討したところ、TLR3 を介する NF- κ B も TRIF 欠損細胞では認められなかったが、TLR4 リガンド刺激による NF- κ B の活性化は TRIF 欠損細胞においても認められた。TLR4 を介するシグナル伝達経路には MyD88 依存的経路も存在する。従って、MyD88 依存的経路による NF- κ B の活性化のために、TRIF 欠損細胞における MyD88 非依存的経路による NF- κ B の活性化の消失が認められないのではないかと考え、TRIF/MyD88 二重欠損細胞を作製し TLR4 を介する NF- κ B の活性化を検討したところ、TRIF/MyD88 二重欠損細胞においては LPS 刺激による NF- κ B の活性化が全く認められず、また、IFN- β 及び IFN 誘導性遺伝子群の発現も全く認められなかった。

[総 括]

TRIF 欠損マウスを作製しその表現型を解析したところ、TLR3 を介する MyD88 非依存的免疫応答が完全に認められなかった。また、TLR4 を介する免疫応答も TRIF 欠損細胞では著しく減弱し、さらに TRIF/MyD88 二重欠損細胞では TLR4 リガンド刺激による MyD88 非依存的応答が完全に消失した。以上の結果より、TRIF が TLR3 と TLR4 に存在する MyD88 非依存的経路を担うアダプター分子であることが遺伝学的に示唆された。

論文審査の結果の要旨

Toll-like receptor (TLR) の細胞内シグナル伝達は受容体の細胞内ドメインである Toll/IL-1 Receptor (TIR) ドメインより発せられる。TLR3 及び TLR4 以外の全ての TLR を介する細胞内シグナルは TIR ドメイン含有細胞内アダプター分子である MyD88 を介して免疫応答が引き起こされるが、TLR3 と TLR4 を介するシグナル伝達は MyD88 非依存的経路が存在することがわかっていたもののその分子メカニズムには不明な点が多かった。

本学位主論文及びその副論文において本申請者は TLR を介するシグナル伝達の MyD88 非依存的経路の分子メカニズムを解明した。本申請者は MyD88 非依存的経路に関与する TIR 含有新規アダプター分子として TRIF を同定し *in vitro* で解析し、さらに TRIF 欠損マウスを用いた *in vivo* の解析から、TLR3 と TLR4 を介する MyD88 非依存的経路に TRIF が必須の役割を果たしていることを証明し、内外から高い評価を得るに至った。

従って、我々は本申請者の本論文が学位に値するものと認める。