

Title	LGP2 is a positive regulator of RIG-I-and MDA5-mediated antiviral responses
Author(s)	佐藤, 荘
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54178
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	佐藤 狂
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23621 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5- mediated antiviral responses (LGP2はRIG-I及びMDA5を介した抗ウイルス応答を正に制御する)
論文審査委員	(主査) 教授 審良 静男 (副査) 教授 松浦 善治 教授 荒瀬 尚

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

細胞内に侵入したRNAウイルスはMDA5やRIG-Iから成るRIG-I Like Helicase (RLH)ファミリーによって認識される。このRLHファミリーの一つであるLGP2は*in vitro*の結果から、MDA5及びRIG-Iのシグナル伝達経路を負に制御する事が報告されていた。そこで我々は、LGP2の生体内における抗ウイルス応答を調査する為に、LGP2の遺伝子を欠損させた”LGP2ノックアウト(KO)マウス”及び、リガンドを認識する際に重要と考えられているATP活性を失活させる変異を導入した”LGP2ノックイン(KI)マウス”を作製し、それらの解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

自然免疫におけるLGP2の機能解析を行うために、定法に従ってLGP2 KOマウス及びLGP2 KIマウスを作製した。LGP2 KOマウス及びKIマウス由来の骨髄から樹状細胞を調製し、これらの樹状細胞に対して様々なRNAウイルスの感染を行い、ELISA法を用いてI型インターフェロン(IFN)やインターロイキン6(IL6)を測定したところ、それらの産生は野生型と比較して顕著に減弱していた。しかしながら、インフルエンザウイルス感染に対しては、野生型と同等のサイトカインの産生がKOマウス及びKIマウスにおいて確認された。

MDA5及びRIG-Iは、*in vitro*で合成されたRNAの認識にも関与している事が報告されているので、これらの合成RNAリガンドに対する応答を調査した。LGP2 KOマウス及びKIマウス由来の細胞を、合成したRNAリガンドを細胞内に導入したところ、野生型と同等のサイトカインの産生

が観察された。

野生型、LGP2 KOマウス及びKIマウスにRNAウイルスの一種であるEMCVを感染させ、血液中のI型IFNを測定したところ、野生型ではI型IFNの産生が確認されたが、KOマウス及びKIマウスではその産生は観察されなかった。続いて、EMCV感染に対するマウスの生存率を調査したところ、KOマウス及びKIマウス共に、野生型と比較してウイルス感染後の生存率は低下していた。更にマウス個体中のウイルスカ価は、KOマウス及びKIマウスにおいて、野生型と比較して増加していた。

〔 総 括 〕

今回、LGP2 KOマウスを作製し解析を行った結果、報告されている*in vitro*の結果とは相反して、MDA5、RIG-Iにより認識されることが明らかとなっている多くのRNAウイルス感染に対するI型IFNの産生を正に制御している事が判明した。LGP2欠損細胞ではRNAウイルス感染に対するRIG-I/MDA5シグナル伝達経路の活性化が障害されており、LGP2がRNAウイルス初期認識に関わると考えられる。RIG-I及びMDA5のCARDドメインをLGP2 KOマウス由来の線維芽細胞に強制発現させると、I型IFNの産生が確認されたことから、この分子はRIG-I及びMDA5の上流に位置している事も判明した。しかしながら、LGP2はRIG-IやMDA5によって認識されるリガンドとして報告されている様々な合成型RNAに対しては正常にI型IFNを産生した。LGP2が微量のウイルスRNAの認識に関わる可能性、ウイルスRNA蛋白複合体のunwindingに関わる可能性が考えられるが、そのメカニズムは今後の課題である。

我々は更に、LGP2のATPase領域に変異を入れ活性を不活化したLGP2 KIマウスを作製し、これらのマウスを用いてRNAウイルスに対する解析を行った。その結果、これらのマウス由来の樹状細胞では、RNAウイルス感染に対して、LGP2 KOマウスと同様にI型IFNの産生が減弱していた。LGP2 KOマウス及びLGP2 KIマウスは*in vivo*でのEMCV感染に対して、野生型と比較して非常に易感染性になっていることも判明した。

以上の事から、LGP2はウイルス由来RNAの認識、I型IFN産生に重要な役割を示しており、さらにその認識にはATPase活性が必要である事が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究では、LGP2 KOマウスを作製し解析を行った結果、報告されている*in vitro*の結果とは相反して、MDA5、RIG-Iにより認識される多くのRNAウイルス感染に対するI型IFNの産生を正に制御している事が判明した。LGP2欠損細胞ではRNAウイルス感染に対するRIG-I/MDA5シグナル伝達経路の活性化が障害されており、LGP2がRNAウイルス初期認識に関わると考えられる。しかしながら、LGP2はRIG-I/MDA5によって認識される合成型RNAに対しては正常にI型IFNを産生した。LGP2が微量のウイルスRNAの認識に関わる可能性、ウイルスRNA蛋白複合体のunwindingに関わる可能性が考えられるが、そのメカニズムは今後の課題である。

更に、LGP2のATPase領域に変異を入れ活性を不活化したLGP2 KIマウスを作製し、これらのマウスを用いて解析を行った結果、これらのマウス由来の樹状細胞では、RNAウイルス感染に対して、LGP2 KOマウスと同様にI型IFNの産生が減弱していた。LGP2 KOマウス及びLGP2 KIマウスは*in vivo*でのEMCV感染に対して、野生型と比較して非常に易感染性になっていることも判明した。以上の事から、LGP2はウイルス由来RNAの認識、I型IFN産生に重要な役割を示しており、さらにその認識には

ATPase活性が必要である事が明らかとなった。

以上の結果は学術的に非常に有意義な研究成果であり、学位の授与に値すると考えられる。