The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The DNA damage sensor MRE11 recognizes cytosolic double-stranded DNA and induces type Ⅰ interferon by regulating STING trafficking
Author(s)	近藤, 豪
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/60037
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【83】

氏　　名	近　藤　　豪（こん どう たけし）
博士の専攻分野の名称	博　士（理学）
学 位 記 番 号	第　２６２６４　号
学位授与年月日	平成25年３月25日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学 位 論 文 名	The DNA damage sensor MRE11 recognizes cytosolic double-stranded DNA and induces type I interferon by regulating STING trafficking. （DNA修復遺伝子MRE11は細胞質２本鎖dsDNAを認識しSTINGの膜輸送を介して自然免疫応答を制御する）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教　授　審良　静男 （副査） 教　授　改正　恒康　　教　授　野田　健司

論 文 内 容 の 要 旨

病原体あるいは宿主に由来する核酸成分は免疫応答を誘導する性質を有する．Toll-like receptors（TLRs）または RIG-I-like receptors（RLRs）によるRNA認識と免疫応答の誘導についてはこれまで多くの研究が行われ，詳細な分子メカニズムが解明されつつある．一方で，DNAの認識と応答については，感染症や自己免疫疾患などにおける重要性が示唆されているにもかかわらず，その分子機構は依然として不明な部分が多い．

TLR9は最初に同定された膜結合型のDNAセンサーであり，エンドソームにおいて非メチル化CpG-DNAを強く認識する．特にplasmacytoid dendritic cellsにおけるI型Interferon（IFN）産生に重要であり，ウイルス感染や自己免疫反応への関与が示唆されている．一方で，DNAが細胞質に進入した場合にはTLR9に依存しないIFN産生が認められ，この場合は転写因子IRF3と，そのキナーゼであるTBK1が必須である． Absent in melanoma 2（AIM2）は細胞質においてDNAを認識し，インフラマソームの活性化を介してIL-1βなどのサイトカイン産生に必須であるが，TBK1/IRF3の活性化，並びにIFNの転写誘導には関わらないことが示されている．

近年，小胞体局在性の膜タンパク質であるSTING（STimulator of INterferon Genes, also known as MITA, ERIS, MPYS or TMEM173）が細胞質DNAに対する免疫応答に必須であることが示された．STINGは細胞質にDNAが進入した際に，小胞体からゴルジ体を経由して核近傍の膜構造体へとダイナミックに移動し，TBK1及びIRF3を活性化する．しかし，STING自身はDNAに対して親和性を示さないことから，この膜輸送を制御するDNAセンサー分子が別に存在することが示唆されていた．

本研究はこの，「STINGの上流で機能する細胞質DNAセンサー」とそれが機能する分子メカニズムを明らかにすることを目的に行われ，DNA損傷の修復に重要であるDNA結合分子MRE11が，細胞質にDNAが曝露された際のSTINGの膜輸送，並びにIFNを含む遺伝子発現において重要であることを見出した．

MRE11の発現が著しく低下しているAtaxia-Telangiectasia-Like Disorder（ATLD）患者由来のヒト細胞及びRNA干渉によりMre11をノックダウンしたマウス細胞においては，細胞質DNAに対するIFN産生が顕著に低下した．このIFN誘導の低下は，MRE11の阻害剤を使用した場合にも認められた．加えて前述したSTINGの膜輸送並びにIRF3のリン酸化，核内移行についてもMRE11が必要であった．さらにMRE11は細胞質導入された外来性のDNAと共局在することが免疫蛍光染色及び生化学的な結合アッセイで認められた．DNA修復の際にMRE11と複合体を形成し機能する分子のうち，

RAD50についてはMRE11と同様にIFN産生に必要であったが，一方でNBS1の積極的な関与は認められなかった．驚くべきことに，細胞質へのDNA曝露とSTINGの活性化によりIFNを誘導すると考えられてきたHerpes Simplex Virus (HSV)-1や*Listeria monocytogenes*といった病原体への応答については，MRE11-RAD50は不要であった．
以上の結果から，MRE11-RAD50複合体がSTINGを介したDNA応答の初期段階でセンサー分子として機能することが明らかとなった．STINGの膜輸送を制御する詳細な分子メカニズムや，前述の病原体に対する応答に関与しない理由は現時点では不明であるが，本研究で得られた知見は今後のDNAを含めた核酸に対する免疫応答の全貌解明に大きく寄与するものと考えられる．

論文審査の結果の要旨

本研究は，細胞質に2本鎖DNAが曝露した際におこる自然免疫応答の分子メカニズムを明らかにすることを目的として，細胞質2本鎖DNAを認識するセンサー分子を探索し，機能解析を行うことで評価した．その結果，核内においてゲノムDNAの2本鎖切断を修復する場合に機能するMRE11(meiotic recombination 11 homolog A)が，細胞質においても2本鎖DNAを認識すること，それによってI型インターフェロンの転写誘導に必要なSTING，TBK1，IRF3の活性化に必須であることを示した．MRE11に変異を持つ毛細血管拡張性運動失調症様疾患(ATLD)の患者由来の細胞において，細胞質2本鎖DNAに対する自然免疫応答が顕著に損なわれていることも明らかにした．

本審査において申請者の発表後，審査員及び会場から，MRE11の細胞内の分布制御，進化的に保存されている意義，他のDNAセンサー分子との関連，認識するDNAの構造に関する質問がなされた．申請者はすべての質問に対して，その主旨を理解し，自らの実験結果とこれまでの文献を引用し，現状で考えられる可能性について概ね適切に回答した．

本論文は，自然免疫における細胞質2本鎖DNAの認識機構の一端を明らかにし，その成果は自己のDNAが発端と考えられる全身性エリトマトーデスのような自己免疫疾患の病態解明や，より安全で有効なDNAワクチン開発につながることが大いに期待される．

審査員一同は，これらの成果を高く評価し，大学院後期博士課程における研鑽や所得単位なども併せ，申請者が博士（理学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した．