

氏 名（本籍） 井 草 龍 太 郎

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 博 第 2 6 3 3 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 2 1 年 3 月 2 5 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 STAM1 and STAM2 Function as Negative
Regulators of Innate Immunity ; their
Involvement in Lysosomal Transport and
Degradation of TLR4 and TLR9
（STAM1, STAM2はTLR4, TLR9のライ
ソゾーム輸送, 分解を抑制することにより自然
免疫系のシグナル抑制機構としてはたらく）

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 貫 和 敏 博 教 授 菅 村 和 夫

教 授 中 山 啓 子 教 授 服 部 俊 夫

論文内容要旨

EGF 受容体に代表されるような多くのサイトカイン受容体はリガンド結合後にユビキチンタンパクが結合し、ユビキチンを介した受容体分解機構を有する。また、受容体自身の分解により受容体シグナルが停止し、受容体分解によるシグナル制御機構がいられている。当研究室で同定した STAM1 と STAM2 (STAMs) はユビキチン化タンパクをリソゾームへの輸送にかかわる ESCRT と呼ばれるタンパク群に属しリソゾーム輸送の第一段階に機能する。STAMs 欠損細胞において EGFR の分解が抑制されることが報告されており、STAMs と結合し、同様の機能を有する Hrs において EGFR, gp130 等の分解制御機構、シグナル制御機構が報告されている。

免疫系は大きく2つに分類することができる。すなわち樹状細胞、マクロファージ等の細胞が司る自然免疫系と、主にリンパ球系が働く獲得免疫系にわかれる。そのうち自然免疫系はマクロファージ、樹状細胞に代表される貪食細胞が細胞、ウイルスを取り込むことにより、抗原提示をおこなうため抗原提示細胞と呼ばれている。これら抗原提示細胞には細菌表面物質や、細菌特異の DNA を認識し、抗原提示細胞を活性化する受容体として、Toll-like receptor (TLR) と呼ばれる受容体群を有することが報告された。その中で TLR4 は細菌表面物質である LPS を認識し、TLR9 は細胞の endosome 上に存在し、細胞内で細菌特有の DNA, CpG-DNA の受容体として機能しており、両受容体は TLR の中でもとくに研究されている。よって私は STAM 分子の自然免疫系の制御・とくに TLR4 と TLR9 とのかかわりについて研究をおこなった。マクロファージ特異的 STAM1/2 欠損 (STAM1/2 cDKO) マウスから抽出したマクロファージにおいて TLR4 のリガンドである LPS, TLR9 のリガンドである CpG-DNA の刺激の増強また下流シグナルの遷延化をみとめた。STAM1/2 cDKO マクロファージにおいて LPS, CpG-DNA 刺激による TLR4, TLR9 の分解も有意に抑制された。STAM1/2 cDKO マクロファージにおいて LPS だけでなく CpG-DNA も刺激後に Lysosome への輸送が阻害された。さらに STAM1/2 cDKO マウスにおいて LPS による敗血症ショックの反応への過剰反応を示した。これらの結果より TLR9 が TLR4 と同様の受容体分解経路を示すことを初めて明らかにするとともに STAM1, STAM2 は TLRs の分解制御にかかわることにより TLR シグナル制御を行うことを証明した。

審査結果の要旨

EGF 受容体やサイトカイン受容体などの多くは、リガンド刺激によりユビキチン化され、さらにユビキチン化受容体はリソソームへと輸送され、分解される。本学菅村研究室で同定した STAM1 と STAM2 (STAMs) は、ユビキチン化タンパク質輸送に関与する ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) 0 複合体構成分子で、ユビキチン化タンパク質のリソソーム輸送における初期段階で機能する。一方、マクロファージなど自然免疫系細胞は、病原体特異的成分を認識する受容体 Toll-like receptors (TLRs) が存在し、この TLRs からのシグナルは自然免疫の活性化に重要な役割を果たす。その中で TLR4 はグラム陰性細菌表面物質である LPS を認識し、TLR9 は病原体特有の DNA である CpG-DNA の受容体として機能する。

申請者は TLRs がリガンド刺激依存的にユビキチン化を受ける点に着目し、STAMs が TLRs のリソソーム分解を介して自然免疫制御に関与する可能性を想定し、TLRs の分解とシグナル制御における STAMs の役割を以下のように解析した。

I) STAM1 と STAM2 が相補的であるので、マクロファージ特異的に STAM1/2 を同時に欠損する STAM1^{flox/flox} STAM2^{-/-} LysM-Cre (STAM1/2cDKO) マウスを作成し、以下の結果をえた。

①本マウス由来マクロファージを LPS, CpG-DNA で *in vitro* 刺激すると、IL-6 と TNF α 産生が促進された。

②両受容体の下流シグナルである Erk および p38 MAPK リン酸化の遷延と 1 κ B α 分解の遷延をみとめた。

③STAM1/2cDKO マクロファージではリガンド刺激による TLR4 および TLR9 の分解が強く抑制された。

即ち、STAMs 欠損により TLRs 分解が起こらないので、TLRs シグナルが遷延化した可能性が示唆される。

II) STAM1/2 欠損 MEF (mouse embryonic fibroblast) 細胞を用い、以下の結果をえた。

①LPS 刺激による TLR4 のリソソームへの輸送と分解は完全に抑制され、その抑制効果は野生型 MEF 細胞をリソソーム阻害剤 E64d で処理した場合と同等であった。

即ち、従来知られていたリソソーム依存的 TLR4 分解に STAMs が必須であることを示す。

②STAM1 と TLR4 が LPS 刺激依存的に結合し、その結合が STAM1 のユビキチン結合部位を介して行われる。

III) STAM1/2cDKO マウスの LPS 敗血症ショックモデルを作成し、以下の結果をえた。

本ダブルノックアウトマウスは野生型マウスに比べ、敗血症性ショックに対しての感受性が強く亢進する。

本研究は、STAMs は、TLR4, TLR9 の系でリガンド刺激依存的な TLRs リソソーム分解を促進することにより、自然免疫系を抑制的に制御することを明らかにしたものであり、博士(医学)の学位論文として優れており、合格と認める。

