

令和3年12月

大谷史江 学位論文審査要旨

主査 景山誠二
副主査 千酌浩樹
同 井上幸次

主論文

Role of interferon regulatory factor 7 in corneal endothelial cells after HSV-1 infection

(HSV感染角膜内皮細胞におけるインターフェロン調節因子7 (IRF7) の役割)

(著者：大谷史江、宮崎大、清水由美子、春木智子、山上聡、井上幸次)

令和3年 Scientific Reports 11巻 16487

参考論文

1. 細菌性角膜炎からアcantアメーバ角膜炎に移行したと考えられる1例

(著者：大谷史江、宮崎大、池田欣史、矢倉慶子、井上幸次、八木田健司、大山奈美)

平成22年 あたらしい眼科 27巻 805頁～808頁

2. The effect of topical application of 0.15% ganciclovir gel on cytomegalovirus corneal endotheliitis

(サイトメガロウイルス角膜内皮炎に対する0.15%ガンシクロビルゲル点眼の有効性)

(著者：小泉範子、宮崎大、井上智之、大谷史江、井上(神鳥)美智子、稲富勉、
外園千恵、中川紘子、堀切智子、上田真由美、中村隆宏、井上幸次、
大橋裕一、木下茂)

平成29年 British Journal of Ophthalmology 101巻 114頁～119頁

3. Role played by receptors for advanced glycosylation end products in corneal endothelial cells after HSV-1 infection

(HSV感染角膜内皮における終末糖化産物受容体 (RAGE) の役割)

(著者：宮崎大、井上 (神鳥) 美智子、清水由美子、大谷史江、蝶野郁世、井上幸次、
山上聡)

令和3年 International Journal of Molecular Sciences 22巻 5833

学位論文要旨

Role of interferon regulatory factor 7 in corneal endothelial cells after HSV-1 infection

(HSV感染角膜内皮細胞におけるインターフェロン調節因子7 (IRF7) の役割)

ヒト角膜内皮細胞(HCEn)は角膜の透明性維持に非常に重要な役割を果たしており、その機能障害により角膜の透明性が低下し、重大な視覚障害を引き起こす。角膜内皮細胞の機能低下による水疱性角膜症は、主に老化、外科的処置、ウイルス感染に起因する。単純ヘルペスウイルス(HSV)やサイトメガロウイルス(CMV)は角膜内皮炎を引き起こす代表的なウイルスである。またHSVは三叉神経節に潜伏し再活性化するため、長期的な治療と管理が必要である。これまで著者らは、培養ヒト角膜内皮細胞を用いて、抗ウイルス応答の解析を行ってきた。その結果、角膜内皮細胞はHSVやCMVに感染後、I型インターフェロン(IFN)に集約される自然免疫応答を発動することを明らかにした。これらの抗ウイルス応答を制御するシグナル因子を同定しその制御機構を明らかにすることで、角膜内皮炎に対する有効な薬剤、管理プロトコールの開発に役立てることを目的とした研究である。

方法

HSV感染後ヒト角膜内皮細胞の包括的転写応答に対してネットワーク解析を行い、主要制御因子としてInterferon regulatory factor (IRF)7を同定した。CRISPR法による遺伝子編集を用いてIRF7欠損細胞株を作成しI型IFNに集約される自然免疫応答、さらには獲得免疫系の賦活化へのIRF7の寄与を検証した。

結果

HSV感染後、角膜内皮細胞はIRF7の誘導とともにIFN β を産生した。一方で、IRF7欠損細胞株においては、自然免疫応答としてのI型IFN応答は高度に障害された。IRF7を過剰発現させたIRF7欠損株ではこの経路は回復した。IRF7の欠損は、ウイルス自体の増殖能には大きな影響を与えなかった。獲得免疫系へのプライミング機能を検証した結果、HSV感染後角膜内皮細胞は、HSV既感染者由来の細胞傷害性T細胞(CTL)に対して、HSVエピトープ特異的かつ主要組織適合遺伝子複合体(Major Histocompatibility Complex:MHC)クラスI分子拘束性にIFN γ とグランザイムBの産生を誘導した。このプライミング機能は、IRF7欠損

株では消失した。また、抗原提示プロセスにおいては、HSV感染は、角膜内皮細胞のMHCクラス I プロモーターの活性化と、細胞表面のMHCクラス I の発現を誘導した。この誘導は IRF7欠損株では消失した。

考 察

I 型インターフェロンの産生は転写レベルで厳密に制御されており、そこでは Interferon regulatory factor (IRF) ファミリー転写因子が必須の役割を果たしている。IRFファミリー転写因子は、現在までに9種類 (IRF1~9) が同定されている。IRFファミリー転写因子の機能は多岐にわたるが、中でもウイルス感染や、細胞のダメージシグナルに応答して産生されるI型インターフェロン遺伝子の転写誘導においては、特にIRF3とIRF7の働きが注目を集めている。IRF7は、以前より形質細胞様樹状細胞 (pDC) において特異的かつ重要な免疫制御因子であると認識されていたが、角膜内皮細胞においてもHSV-1感染後に有意に誘導され、自然免疫系として強力な I 型IFN応答を誘導することが示された。

ウイルス防御においては、CTLを中心とした、獲得免疫系の働きも非常に重要である。CTL はウイルス感染細胞の細胞表面に提示されたMHC (ヒトではHuman Leucocyte Antigen:HLA) Class I 分子と結合した特異抗原ペプチドを認識し標的細胞に対し細胞傷害活性を示して破壊する。今回の研究結果により、角膜内皮細胞は抗原提示能を有し、IRF7は感染誘発性のMHCクラス I の発現とCTLの活性化にも寄与していることが明らかになった。

IRF7は、角膜内皮細胞の自然免疫系だけでなく獲得免疫系の賦活化も行うことで、より強固な抗ウイルス応答を発揮していると思われた。IRF7の角膜内皮細胞における抗ウイルス応答は、ウイルスの再活性化に対して迅速に対応でき、かつ新たな抗原提示細胞の動員を必要としないという利点があり、角膜内皮細胞特有の免疫機構の構築に重要な役割を果たしていると思われた。また、IRF7は、角膜内皮細胞におけるHSV-1感染後のウイルス増殖能を低下させる働きはなかった。このことは、IRF7の働きは細胞特異性があり、それぞれの組織に応じた対応をしていることが示唆された。

結 論

角膜内皮細胞において、IRF7はウイルス感染後の自然免疫系及び獲得免疫系誘導に寄与する重要な制御因子である。この知見が今後難治性のウイルス性角膜炎の治療開発に役立つ可能性がある。