

Title	Absence of the Type I IFN System in EC cells : Trans-criptional Activator (IRF-1) and Repressor (IRF-2) Genes Are Developmentally Regulated
Author(s)	原田, 久士
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37208
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	原 田 久 士
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9664 号
学位授与の日付	平成3年3月26日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Absence of the Type I IFN System in EC cells : Transcriptional Activator (IRF-1) and Repressor (IRF-2) Genes Are Developmentally Regulated (EC細胞におけるインターフェロン系の欠如：正の転写因子IRF-1と負の転写因子IRF-2の発現は分化特異的に制御されている)
論文審査委員	(主査) 教授 谷口 維紹 (副査) 教授 吉川 寛 教授 岡田 善雄

論文内容の要旨

(目 的)

インターフェロン (IFN) は、多様な生理活性をもつサイトカインの1つである。ウイルス感染によってI型IFN (IFN- α , IFN- β) の発現は、種々の分化した細胞において一過的に誘導される。現在までにI型IFNやIFN誘導遺伝子のプロモーターの同じ領域に結合する転写因子IRF-1 (Interferon Regulatory Factor - 1) とIRF-2が同定、解析されてきた。今回、細胞の分化段階におけるIFNの発現とIRFの発現との相関、またその際のIRFの機能を調べる目的で、Embryonal Carcinoma (EC) 細胞を用いて未分化及び分化後におけるそれぞれの遺伝子発現について解析を行った。

(方法と結果)

EC細胞であるP19とF9からRNAを抽出しS1 mapping法によってIRF及びIFN遺伝子の発現を調べた。未分化状態ではIRF-1, -2共にmRNAの発現はウイルス感染にかかわらず、検出できなかった。しかしレチノイン酸を用い分化させると、細胞当たり数コピーの両IRF mRNAが検出され、さらにウイルス感染によってその発現が増大した。これに伴ってIFN- β mRNAの発現も誘導された。次にゲルシフト法を用い、IRF-1, -2の蛋白レベルにおける発現を調べた。未分化細胞においては、IRF蛋白の活性は検出されなかった。しかし、分化させると、ウイルス感染なしに顕著なIRF-2の活性が検出された。また、IRF-1の活性はウイルス感染によって著しく発現誘導された。以上よりIRFの活性は未分化P19細胞において検出されなかったため、これを用いIRF-1, -2の機能解析を行った。

まず、IRFの発現ベクターとヒトIFN- β 遺伝子プロモーター、ヒトIFN- α 遺伝子プロモーターのVRE (virus responsive element) 領域及びマウスMHC class I H-2L^d 遺伝子プロモーターをそれぞれ含んだCATレポーター遺伝子とをco-transfectionし、CAT活性を測定した。いずれのプロモーターもIRF-1 cDNAを発現させると効率よく活性化された。さらにIRF-1による遺伝子の活性化はIRF-2 cDNAを同時に発現させることにより、強く制御された。次にIRFの発現により染色体上のIFN遺伝子の誘導が起こるかを調べた。未分化P19細胞においてIRF-1 cDNAを発現させるとIFN産生が強く誘導された。このIFN活性はIRF-2の構成的な発現の見られる分化P19細胞を用いた時の約5倍の産生量であった。さらにIRF-2 cDNAを同時に発現させるとIFN誘導は顕著に抑制された。

(総括)

EC細胞におけるIFNシステムの制御について本研究は様々な問題を明らかにした。

(1) 以前よりIFNシステムは胚細胞及びEC細胞の分化段階において制御を受けていることが知られていた。今回、IRF-1、-2遺伝子の発現が分化特異的に制御されていることがわかった。すなわち、IRF遺伝子の発現がIFN遺伝子の発現と密接に関連していることを示すと共に、IRFの発現がIFNシステムに重要であることを示唆している。

(2) IRF活性の検出できない未分化細胞を用いて、ヒトIFN- α 、- β 及びマウスMHC class Iプロモーター、さらに染色体上のIFN遺伝子が、IRF-1の発現によって活性化され、IRF-2を同時に発現させることによりこの活性化は著しく抑制されることを示した。この結果は、IRF遺伝子こそが未分化細胞では機能せず、分化すると初めて機能するIFNシステムを制御する遺伝子であることを強く示唆している。また実際にIRF-1は転写活性化因子、IRF-2は抑制因子として機能することが明確になった。

(3) IRF-2の構成的な発現のみられる分化した細胞に上記と同様なトランスフェクション実験を行うと、IFN遺伝子のIRF-1による効率のよい転写活性化は見られなかった。実際、IFNや他のサイトカインによってIFNはごく少量に産生されるか、あるいはまったく産生されないことが知られている。しかし、ウイルス感染ではIFN遺伝子の転写は効率よく活性化される。すなわち、サイトカイン処理によってIRF-1は誘導されるが、あらかじめ存在するIRF-2のために効率よくDNAに結合できない。一方、ウイルス感染によって誘導されたIRF-1は修飾などを受けてDNA結合能が変化し、効率よく転写を活性化できると考えられる。このようなメカニズムは、サイトカインの過剰産生を抑制する上で重要な役割を果たしていることが推測される。

以上、IRF-1とIRF-2がDNA結合を競合するシス領域は正にも負にも機能するという二面性を持ち、IFN遺伝子の発現を巧妙に調節していることが強く示唆された。このような制御機構は他のサイトカインシステムにおいても機能していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

インターフェロン（IFN）系の分子生物学的解析を行なうなかで動物細胞においてはじめてレプレッサー，IRF-2の存在を発見した。更に転写活性化因子IRF-1とレプレッサーIRF-2とがどのようにして分化細胞におけるIFN系の制御に関与しているか，そのモデルを立て，未分化EC（Embryonal Carcinoma）細胞を用いることによって実証した。一連の研究は国際的にも極めて高い評価を受けており，博士論文に充分値するものである。