The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Unresponsiveness of MyD88-Deficient Mice to Endotoxin
Author(s)	河合, 太郎
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41759
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

【123】

氏　　名	河　合　太　郎（かわい たろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15328　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学　位　論　文　名	Unresponsiveness of MyD88-Deficient Mice to Endotoxin （MyD88欠損マウスはエンドトキシンに対し不応答である）
論文審査委員	（主査） 教　授　審良　静男 （副査） 教　授　菊谷　仁　　教　授　平野　俊夫

論文内容の要旨

【目的】

ショウジョウバエにおいてToll分子は背腹軸形成や細菌、真菌に対する生体防御において必須の役割を果たしていることが知られている。さらに、ヒトにおいても複数のToll様分子（Toll like receptor 1－6：TLR1－6）が同定され、これら分子が細菌等の認識や排除、いわゆる自然免疫の獲得において機能していることが示唆されている。TLR分子はロイシンに富む繰り返し構造を示す細胞外領域とIL－1レセプターと相同性を示す細胞内領域から成るI型レセプターであり、そのシグナル伝達経路はIL－1レセプターと同様と考えられる。TLR／IL－1レセプターの細胞質内ではアダプター分子MyD88が刺激依存的に結合し、さらにキナーゼIRAKと結合することにより最終的に転写因子NF－κBやMAPキナーゼファミリーを活性化し標的遺伝子の発現を誘導することが示されている。今回、MyD88欠損マウスを用いてグラム陰性菌の成分であるリポポリサッカライド（LPS）に対する反応性を検討し、LPS反応におけるMyD88の役割を検討した。

【方法ならびに成績】

まず、野生型及びMyD88欠損マウスの腹腔内に1mgのLPSを投与し、その後誘導されるエンドトキシン・ショックを観察した。その結果、野生型が全例96時間以内に死亡するのに対して、MyD88欠損マウスは全例生存した。またLPS投与後の血中サイトカインは野生型ではIL－1β、IL－6、TNFαが著明に増加するのに対し、MyD88欠損マウスではこれらサイトカインの産生はまったく認められなかった。次に腹腔内マクロファージのLPS反応性を調べた。野生型マウス由来腹腔内マクロファージをLPS単独、及びLPSとIFNγで刺激すると野生型では培養上清中のIL－6、TNFα、NO_2濃度が上昇するのに対し、MyD88欠損マクロファージでは認められなかった。またLPS刺激による脾臓B細胞の増殖、MHCクラスIIの発現増強はMyD88欠損マウスでは認められなかった。

次にLPS刺激によるシグナル伝達分子の活性化を調べた。まず、腹腔マクロファージをLPSの活性中心体であるリピドA（2μg／ml）で刺激し、その後のIRAKの活性化をキナーゼアッセイにより検出したところ、野生型ではIRAKの自己リン酸化が刺激後10分で誘導されるのに対し、MyD88欠損マウス由来マクロファージはIRAKの活性化は認められなかった。次にMAPキナーゼファミリー（ERK1、2、JNK、p38）とNF－κBの活性化をウェスタンブロット及びゲルシフトアッセイにより調べた。野生型マクロファージではリピドA刺激によりMAPキナーゼファミリーとNF－κBの活性化が誘導された。一方、MyD88欠損マウス由来マクロファージにおいてもこれら分子

の活性化は認められた。しかしながら、野生型が刺激後10分以内に活性化が認められるのに対し、MyD88欠損マクロファージでは20分より活性化が認められた。また、1ng／mlという少量刺激においてもMyD88欠損マクロファージは野生型と同程度のNF－κBの活性化を認めた。

【総括】

MyD88欠損マウスがLPSに対し不応答性を示すことが明らかとなった。最近、LPS不応答性を示す変異マウスC3H／HeJがTLR4遺伝子に点変異をもつことが報告された。従って、MyD88はTLRファミリーのシグナル伝達において必須の分子であると考えられる。しかしながら、MyD88欠損マウス由来マクロファージでは野生型と比べ時間的な遅れはあるもののMAPキナーゼとNF－κBの活性化が認められた。このことはLPSシグナル伝達にはMyD88依存的、非依存的な経路が存在していることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

本論文はIL－1R／TLRファミリーに結合するアダプター分子MyD88の役割を解析したものである。TLRファミリーの一つTLR4はエンドトキシンであるLPSの反応に必須のレセプターであり、そのアダプターであるMyD88がノックアウトマウスを用いた結果からLPSに対する反応において必須の分子であることを明らかになった。また、致死性を示すエンドトキシンショックの発症機序を理解することは臨床医学上重要なことである。本研究は今まで不明な点が多かったLPSのシグナル伝達機構の解明に貢献した点で評価出来る。さらにMyD88欠損マウスはエンドトキシンショックに対し完全に抵抗性を示すことから、MyD88の活性をコントロールできるような薬剤の開発は炎症をはじめとする疾患の治療においても重要な意義をもつと考えられる。よって本論文は博士（医学）の学位授与に値する。