

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	かわい たい じょう
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 : TLR 1-6) 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- κ B 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 1 mg 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-1 β 、IL-6、TNF α 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 IFN γ で刺激すると野生型では培養上清中の IL-6、TNF α 、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 (2 μ g/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 (ERK 1、2、JNK、p38) と NF- κ B 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- κ B 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、1 ng/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- κ B 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 TLR 4 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- κ B 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依存性、非依存性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 TLR 4 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。