



Title	自然免疫および獲得免疫におけるIL-1受容体会合キナーゼ4の役割
Author(s)	鈴木, 忍
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44727
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	すずき しのぶ 鈴 木 忍
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 2 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 1 月 28 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	自然免疫および獲得免疫における IL-1 受容体会合キナーゼ 4 の役割
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 山元 弘 (副査) 教授 八木 清仁 教授 前田 正知 教授 土井 健史

論 文 内 容 の 要 旨

免疫系は、体外から侵入してきた細菌やウイルスなどの病原体を察知し排除する生体防御システムであり、自然免疫系と獲得免疫系から成り立っている。近年、自然免疫系においては、病原体に特有の構成成分のパターン認識に関わる Toll 様受容体 (TLR) 及びそのファミリーが、免疫系惹起の中心的な役割を持つことが明らかになってきた。これらのファミリーは、インターロイキン (IL)-1 受容体/TLR/Plant R (TIR) ドメインと呼ばれる構造を有している。この TIR ドメインを有する IL-1 受容体、TLR、IL-18 受容体は、リガンド結合により活性化されると、いずれも、主に転写因子 NF- κ B を介したシグナル伝達を誘導することで、生体の免疫反応を活性化する。

これら TIR ドメイン含有受容体のシグナル伝達には、これまで、IRAK (IL-1 受容体会合キナーゼ)、MyD88 および TRAF6 と呼ばれるシグナル分子が深く関与していることが知られていた。IRAK は、ショウジョウバエの免疫に必須の役割を果たす Pelle の哺乳類ホモログとして同定され、2002 年以前は三つのファミリーメンバー (IRAK-1、-2、-M) が報告されていた。この中で最初に報告された IRAK-1 が、もっとも重要な IRAK であると考えられてきたが、最近、TIR ドメイン含有受容体のシグナル伝達において IRAK-1 は部分的にしか必要とされないことが明らかとなり、IRAK-1 以外の、他の重要な因子の存在が示唆されていた。

IRAK ファミリーメンバーはいずれも、N 末端に Death ドメイン、C 末端にキナーゼドメインを有するが、新規の IRAK である IRAK-4 は、アミノ酸配列の長さや塩基配列の類似性などから、Pelle に最も酷似していた。さらに、IRAK-4 はユビキタスに発現していることから、IRAK-4 が真の Pelle ホモログであると考え、これが TIR ドメイン含有受容体シグナル伝達機構の要となる分子であると想定し、その遺伝子欠損マウスを作製して詳細な解析を行った。

IRAK-4 欠損マウスは、メンデルの法則に従って健康に生まれてくる。しかし、野生型マウスと異なり、IL-1 を腹腔内投与しても、IRAK-4 欠損マウスでは血清中に炎症性サイトカインの産生が認められず、この傾向は、胎児繊維芽細胞 (MEF) を用いた *in vitro* の実験でも確認された。これより IRAK-4 は IL-1 シグナルに特異的であることがわかった。さらに、敗血症モデルとして、野生型及び IRAK-4 欠損マウスに致死量の LPS を投与したが、野生型が 24 時間以内に敗血症によって死亡したのに対し、IRAK-4 欠損マウスは敗血症を発症せず、血清中の炎症性サイトカインも産生されなかった。また、細胞レベルでも TLR4 シグナルを検討したが、IRAK-4 欠損細胞では LPS に反応を示さなかった。さらに TLR2、3、9 シグナルの各々のリガンドで MEF を刺激し、サイトカイン産生を指標に反応を調べたが、やはり IRAK-4 欠損細胞での反応は認められなかった。

次に、IRAK-4 欠損マウスにおける自然免疫応答を細菌感染実験等で調べた結果、野生型に比べて欠損マウ

スははるかに感染に弱いことが判明した。ただし、ウイルス感染の実験より、抗ウイルス作用を持つインターフェロンの発現は IRAK-4 欠損マウスでは認められないものの、NK 細胞の活性化は野生型と同じように起こるとい興味深い知見も得た。

さらに、IRAK-4 欠損細胞における、TIR ドメイン含有レセプターのシグナル伝達についても検討したが、IL-1 刺激による JNK 及び NF- κ B の活性化が特異的に抑制されることがわかった。IRAK-4 はまた、シグナル伝達経路の上流の方に位置することも推測された。以上の解析により、IRAK-4 は、IL-1R および TLR からのシグナル伝達系の下流に存在し、それらの伝達系に大変重要なファクターであることが分かった。

加えて NK 細胞の細胞傷害性活性や Th1 細胞による IFN- γ 産生反応、更には活性化 T 細胞の細胞増殖に非常に重要な働きを有する IL-18 シグナル伝達経路での IRAK-4 の重要性、役割について、IL-18 刺激による Th1 の IFN- γ 産生、NK 細胞の細胞障害活性、転写因子 NF- κ B 及び AP-1 の活性化を指標に、検討した。その結果、他の TIR ファミリーメンバー同様に、IRAK-4 が、IL-18 シグナル伝達経路においても必要不可欠な役割を果たしていることも見いだした。

しかしながら、LPS シグナルにおいては、サイトカインの産生は認められないものの、弱い NF- κ B の活性化がみられること、ウイルス感染の実験より、NK 細胞の活性化が IRAK-4 欠損マウスで誘導されるが、樹状細胞の活性化がこのような獲得免疫系活性化に必要であることなどから、LPS による樹状細胞の活性化における IRAK-4 の役割に付いても検討を加えた。その結果、LPS シグナルには IRAK-4 非依存的に NF- κ B を活性化する経路があり、その一つが PI3K であることが示唆された。

自然免疫系の活性化は、獲得免疫系の活性化を誘導するが、TLR が自然免疫のみならず、獲得免疫活性化にも深く関与していると報告され始めている。また、IL-1 シグナルも、ある種の心筋炎等の自己免疫疾患誘導に深く関与していることがわかっている。IL-1 受容体欠損マウスを用いた実験では、自己免疫疾患によって誘導される心筋炎の発症には、IL-1 による樹状細胞の活性化が必要であることが判明した。そこで、現在、心筋炎発症における IRAK-4 の役割について、IRAK-4 欠損マウスを用いて調べている。

上記の研究より、IRAK-4 は、IL-1 受容体、TLR および IL-18 受容体からのシグナル伝達系の下流に存在しており、IRAK-4 分子を欠損させるとそれらのシグナルが著しく損なわれることが分かった。つまり、IRAK-4 分子は、自然免疫のシグナル伝達系に必要不可欠な因子であることが判明した。さらに、獲得免疫誘導に重要な樹状細胞の活性化において、IRAK-4 は LPS からのシグナルの一部を担い、サイトカイン産生を促すが、その他にも IRAK-4 に依存しないシグナル経路が存在し、それが樹状細胞活性化を部分的に促していることが示唆され、これらの知見は獲得免疫系移行のメカニズム解明の糸口となると思われる。

論文審査の結果の要旨

IL-1 受容体、Toll 様受容体、IL-18 受容体は、自然免疫系での重要なシグナル伝達を果たしている。これら受容体は共通した構造、TIR ドメインを有しており、これまで TIR ドメインからは IRAK (IL-1 受容体会合キナーゼ)、MyD88 および TRAF6 とよばれるシグナル分子が作動することが知られてきた。IRAK は、ショウジョウバエの免疫系で必須の因子 Pelle のホモログとして同定され、ほ乳動物では 4 種の分子 (IRAK-1、-2、-M、-4) が見つかっているが、IRAK-4 が Pelle と最も類似性が高い。本研究では IRAK-4 が真の Pelle のホモログと考え、TIR ドメイン含有受容体シグナル伝達機構の要となる分子と想定し、その遺伝子欠損マウスを作成して IRAK-4 の重要性、役割等を詳細に検討した。

本研究では、IRAK-4 欠損マウスを用いて以下のことを明らかにした。

1. 新規の IL-1 受容体会合キナーゼである IRAK-4 が、ショウジョウバエ Pelle にもっとも近い哺乳類ホモログであり、IL-1、IL-18 や TLR を介した自然免疫反応に必要な不可欠であることが判明した。
2. IRAK-4 欠損動物は、致死量の LPS 投与による敗血症ショックに完全耐性であり、細菌感染に対する自然免疫応答能も著しく低下していることが判明した。

3. TLR4 シグナル伝達機構が、IRAK-4 を介した経路と、IRAK-4 を介さない PI3K などによって制御されている経路に二分されていることが判明した。
4. TLR4 シグナル伝達機構における IRAK-4 依存性経路は、LPS による樹状細胞活性化に影響を与えており、獲得免疫系の活性化における IRAK-4 の重要性が明らかになった。

以上の知見は、特に自然免疫系での IRAK-4 経路の重要性を明確にしたものであり、またこの経路は獲得免疫系でも働く可能性を示唆した。新しい免疫調節薬の開発研究に大いに役立つものであり、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものとする。