The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Lethal anemia caused by interferon-β produced in mouse embryos carrying undigested DNA
Author(s)	吉田, 英行
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45475
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

氏　　名　吉田英行（よしだ ひでゆき）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　19270　号

学位授与年月日　平成17年3月25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　Lethal anemia caused by interferon-β produced in mouse embryos carrying undigested DNA
（未分解DNAを蓄積させたマウス胎仔におけるインターフェロンβによる致死的貧血）

論文審査委員　（主査）
教　授　長田　重一

（副査）
教　授　平野　俊夫　　教　授　金倉　　譲

論文内容の要旨

〔目　　的〕

アポトーシス細胞のDNAは死細胞のCAD（caspase activated DNase）によるばかりでなく、貪食された後にマクロファージに存在するDNaseIIによっても分解される。私達の研究室ではこれまでにDNaseII KOマウスを樹立した。このマウス胎仔にはアポトーシス細胞由来のDNAを蓄積したマクロファージが様々な場所に認められる。さらに、このマウスの胎仔肝では血液島（blood island）を構成するマクロファージに赤芽球由来と考えられる核DNAが未分解の状態で大量に残存し、胎仔は胎生後期に重度の貧血を伴い死滅する。本研究は、DNaseII KO胎仔肝の異常と、このマウスが胎生期に死滅することの因果関係を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

胎生14.5日目のDNaseII KOマウス胎仔肝より細胞を調製し、FACSで解析したところ、赤芽球、B cell、T cellの各分画の割合は野生型胎仔肝のものと差異はなかった。しかし、赤芽球分画にTUNEL陽性の細胞が増加しており、赤芽球がアポトーシスを起こしていると考えられた。この原因を解析するため野生型、DNaseII KOマウス胎仔肝よりRNAを調製し、DNAマイクロアレイにより解析した。赤血球造血を制御するサイトカインである、Kit ligand、EPO、IL3、IL7や転写因子GATA-1などの発現には両者で大きな差異は認められなかった。しかし、Heat-shock protein 68、T cell-specific GTPaseや2′-5′ oligoadenylate synthetaseなどインターフェロン（IFN）誘導遺伝子群の発現がDNaseII KO胎仔肝で100～200倍増強していた。そこで、IFN遺伝子の発現をノザンブロット法、realtime PCR法で検討したところ、本来野生型マウスでは発現されていないIFN-βおよびIFN-γがDNaseII KOマウス胎仔肝では顕著に発現されていた。さらに、DNaseII KO胎仔肝細胞をマクロファージとそれ以外の細胞にMACSで分画した後、IFN遺伝子の発現を検討したところ、IFN-βはマクロファージに、IFN-γはマクロファージばかりでなくそれ以外の細胞でも発現されていた。さらに、in situ hrbridizationにより、IFN-β遺伝子がDNAを異常に蓄積させたblood islandのマクロファージで発現していることを確認した。ところで、IFNには細胞障害作用が存在することが知られているが、90%以上が赤芽球である胎仔肝の細胞をIFN-β存在下で培養すると、濃度依存的に細胞増殖が抑制された。一方IFN-γには赤芽球に対する顕著な致死作用は認められなかった。以上の結果よりDNAを蓄

積したマクロファージの産生する IFN-βが局所的にその周囲に存在する赤芽球に作用しアポトーシスを誘導、その結果胎仔が貧血に陥ったと考えられた。このことを確認するため、IFN-α、β共通のレセプターであるタイプ1 IFNレセプター（IFN-IR）と DNaseII 遺伝子を共に欠損する（WKO）マウスを交配にて作製したところ、このマウスはメンデルの法則に従い一見正常に誕生し、貧血の症状も認められなかった。

DNaseII、IFN-IR WKO マウスの胎仔肝のマクロファージには DNaseII KO と同じ様に DNA が蓄積し、IFN-βや IFN-γ遺伝子も構成的に発現していたが、赤芽球のアポトーシスの増加は認められなかった。また。DNaseII KO マウスで発現増強が認められた IFN 誘導遺伝子のうち、2′-5′ oligoadenylate synthetase、IRF-7 などの発現が顕著に抑制されていた。これら遺伝子が IFN-βの致死作用を媒介すると考えられ興味深い。

〔 総　　括 〕

DnaseII 遺伝子の欠損はマウス胎仔に致死的に作用する。この致死作用は DNA を蓄積させたマクロファージで産生される IFN-βが IFN レセプターを介して引き起こす作用の結果であることを明らかにした。このことは、自己の DNA であっても分解されずマクロファージに蓄積することで IFN-βの遺伝子発現という自然免疫様の反応を惹起し、これが個体に対して致死的に作用することを示している。

論文審査の結果の要旨

細胞内のリソソームに存在する DNA 分解酵素である DNaseII の遺伝子欠損はマウス胎仔に致死的貧血を惹起する。この貧血は未分解の DNA を蓄積させた Blood island のマクロファージで産生される IFN-βが IFN レセプターを介して引き起こす赤芽球の増殖障害、あるいはアポトーシスの結果であることを、分子生物学的手法および遺伝学的手法を用いて明らかにした。このことにより、自己の DNA であっても分解されずマクロファージに蓄積することで IFN-βの遺伝子発現という自然免疫様の反応を惹起し、個体に対して致死的に作用し得ることが示された。

元来、活性を持たないと考えられていた哺乳動物の自己の DNA であっても未分解の状態で蓄積することで、細菌などの DNA と同じく自然免疫反応を引き起こし得ること、および、本来免疫として生体に有益に作用するはずの IFN-βが細胞によっては障害作用を強く発揮し、胚に対して致死的に作用し得るほどの作用を持つことを明らかにしており、学位に値するものと認める。