



Title	Toll-like receptor-independent gene induction program activated by mammalian DNA escaped from apoptotic DNA degradation
Author(s)	岡部, 泰賢
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46304">https://hdl.handle.net/11094/46304</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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	お 岡 部 泰 賢
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20085 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 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	Toll-like receptor-independent gene induction program activated by mammalian DNA escaped from apoptotic DNA degradation (アポトーシスの過程で分解を逃れた DNA による Toll-like receptor 非依存的な遺伝子活性化の機構)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 長 田 重一  (副査) 教 授 審 良 静男 教 授 平 野 俊夫

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [ 目的 ]

アポトーシスの過程では、死細胞の染色体 DNA が積極的に分解される。この分解には、死細胞内で作用する CAD (caspase-activated DNase) と、アポトーシス細胞がマクロファージによって食食された後、マクロファージのリソソームで作用する DNaseII が関与している。DNaseII 単独もしくは DNaseII と CAD の両者を欠損するマウスでは、未分解の DNA を大量に蓄積するマクロファージが種々の組織に存在する。さらにこれらのマウスでは、I 型インターフェロン (IFN) 系が恒常的に活性化され、その作用により種々の臓器の発生が障害される。このような背景のもと本研究では、アポトーシス時に自己の染色体 DNA が分解されない何故、IFN 系を代表とする自然免疫機構が活性化されるのか。その分子機構、生理作用を明らかにすることを目的とした。

### [ 方法ならびに成績 ]

DNaseII 欠損マウス胎仔肝臓では多数のマクロファージが DNA を分解できず蓄積する。また、この組織では数多くの遺伝子 (IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IFN 誘導遺伝子群など) の発現が顕著に増加する。まず、胎仔肝臓のどの細胞がこれらの遺伝子を発現するのか明らかにするため、DNaseII 欠損マウス胎仔肝臓から調製した細胞をマクロファージとそれ以外の細胞に magnetic cell sorting (MACS) により分画した後、遺伝子発現を検討した。その結果、IFN- $\beta$ 、CXCL10、TNF- $\alpha$  がマクロファージで特異的に活性化されており、これらは未分解の DNA により直接活性化される遺伝子である可能性が示唆された。一方、IFN- $\gamma$  や他の IFN 誘導遺伝子はマクロファージばかりでなくそれ以外の細胞でも活性化されていることから、これらはマクロファージにより産生されたサイトカインやケモカインにより二次的に誘導されている可能性が考えられた。

野生型マウス胎仔から調製したマクロファージもしくは mouse embryonic fibroblast (MEF) に CAD を欠損したアポトーシス細胞を食食させると、アポトーシス細胞の染色体 DNA はリソソームで速やかに分解される。一方、DNaseII 欠損マウス胎仔から調製したマクロファージや MEF にアポトーシス細胞を食食させると、リソソーム内に死細胞の DNA が蓄積する。この時、IFN- $\beta$  や CXCL10 遺伝子の活性化が誘導された。このことから、アポトーシス

の過程で分解を逃れた DNA によって IFN- $\beta$  や CXCL10 遺伝子の活性化が誘導されることが示された。

ところで、Toll-like receptor 9 (TLR9) はバクテリア由来の DNA をリガンドとして、アダプター因子 MyD88 を介し IFN- $\beta$  遺伝子の発現を誘導することが知られている。また、ウイルスの二重鎖 RNA は TLR3 とアダプター因子 TRIF を介して IFN- $\beta$  遺伝子を活性化する。分解を逃れた自己の哺乳動物 DNA による IFN 遺伝子の活性化に TLR やそのアダプター因子が関与する可能性を検討する目的で、DNaseII と TLR9、TLR3、MyD88、TRIF との二重欠損マウスを作製した。しかし TLR9、TLR3、MyD88、TRIF 遺伝子の欠損は、DNaseII 欠損マウスにおける IFN- $\beta$  遺伝子の発現に影響を与えなかった。この結果から、分解を逃れた自己の DNA による IFN 遺伝子の活性化には TLR のシステムは関与していないことが示された。

#### [ 総括 ]

アポトーシスにおける自己の DNA 分解の異常は IFN- $\beta$ 、CXCL10、TNF- $\alpha$  遺伝子の活性化を誘導し、生体に有害な作用を及ぼす。そしてこの活性化のシグナルは細菌 DNA やウイルス RNA によるシグナル伝達と異なり、TLR 非依存的である。今後は未分解の自己の DNA によるシグナル伝達機構を明らかにし、自己の DNA が生体に及ぼす病態を詳細に検討する必要がある。

#### 論文審査の結果の要旨

アポトーシスの過程では死細胞の染色体 DNA が積極的に分解される。この DNA 分解には死細胞内で作用する DNase (CAD, caspase-activated DNase) と、死細胞を食食した後、マクロファージで作用する DNaseII が関与している。

本研究では、DNA を分解できず蓄積する DNaseII 欠損マクロファージにおいて、IFN $\beta$ 、CXCL10、TNF $\alpha$  遺伝子が特異的に活性化されている事を明らかにした。また、DNaseII 欠損マウスから調製した細胞にアポトーシス細胞を食食させるとこれらの遺伝子が活性化されたことから、リソソームでの分解を逃れた DNA が自然免疫系を活性化することを示した。ところで、Toll-like receptor (TLR) はバクテリア DNA やウイルス RNA を認識し、自然免疫系を活性化する事が知られている。自己の未分解の DNA が TLR の機構を活性化している可能性を検討したが、このシグナルは TLR 非依存的であった。

以上の知見は、自己 DNA の分解機構の破綻がバクテリア DNA やウイルス RNA によるシグナルとは異なる経路で自然免疫系を活性化することを明らかにしたものであり、学位の授与に値すると考えられる。