



Title	Essential role of IRAK-4 protein and its kinase activity in Toll-like receptor-mediated immune responses but not in TCR signaling
Author(s)	河越, 龍方
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49044
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	河越龍方
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第21816号
学位授与年月日	平成20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	Essential role of IRAK-4 protein and its kinase activity in Toll-like receptor-mediated immune responses but not in TCR signaling (Toll-like receptor 及び T cell receptor 下流における IRAK-4 とそのカイネース活性の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 審良 静男 (副査) 教授 荒瀬 尚 教授 菊谷 仁

論文内容の要旨

〔目的〕

IL-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK-4) は Toll-like receptor (TLR) シグナルにおいて MyD88 からのシグナルを下流に伝える。その結果、NF- κ B や MAP キナーゼが活性化し、炎症性サイトカインが誘導される。また IRAK-4 は T cell receptor (TCR) を介するシグナル誘導においても重要な役割を果たしていると報告されている。これまで強制発現系を用いた解析から IRAK-4 のカイネース活性の必要性については、必要であるという報告と、必要ではないという 2 つの相反する報告がなされている。そこで本研究では IRAK-4 のカイネースドメインに変異を加えたノックインマウス (KI) および遺伝子発現を完全に欠失したノックアウトマウス (KO) を作製し、野生型マウス (WT) と比較することにより、生体内における IRAK-4 のカイネース活性の生理的意義について検討をした。

〔方法ならびに成績〕

まず、LPS (TLR4 リガンド) あるいは CpG-DNA (TLR9 リガンド) を腹腔内投与することにより引き起こされるショックの反応を WT、KO、および KI マウス間で比較した。WT ではショックを起こし多くのマウスが死亡した。一方、IRAK-4 KI マウスでは IRAK-4 KO マウスと同様にショックに対し完全に耐性を示した。

次に、マクロファージを用いて、TLR 刺激に対する炎症性サイトカイン産生を ELISA を用いて調べたところ、PolyI : C (TLR3 リガンド) 以外の TLR リガンド刺激に対し、WT と比べて、IRAK-4 KI では KO 同様に IL-6、TNF α 、IL-12 といった炎症性サイトカイン産生の著しい低下を認めた。

次に、TLR 刺激に対する遺伝子発現における IRAK-4 の影響を検討した。シグナル伝達が MyD88 に完全に依存することが知られている TLR2 のリガンドである MALP-2 にてマクロファージを刺激し、炎症性サイトカインなどの遺伝子発現をノザンプロット法により検討した。野生型で発現誘導される IL-6、TNF α 、I κ B ζ 、COX-2 は、MyD88 KO 細胞では欠如していた。これに対し、IRAK-4 KO および IRAK-4 KI 細胞では、IL-6 と COX-2 の発現は欠如していたが、早期に誘導される TNF α および I κ B ζ においては減弱しているもののその発現が認められた。

次にマクロファージを MALP-2 で刺激し、NF- κ B の DNA 結合能をゲルシフトアッセイにて調べたところ、IRAK-4

KI および KO マウスでは NF- κ B の活性化が完全には消失しなかった。MyD88 KO マウスではこの NF- κ B の活性化が完全に認められなくなった。従って MyD88 依存性で IRAK-4 非依存性なシグナル伝達経路の存在が明らかとなつた。IRAK ファミリーのうち IRAK-1 は、IRAK-4 同様にカイネース活性を有するとされており、IRAK-1/IRAK-4 重欠損マウスを作成し調べたところ、このマウスにおいても NF- κ B の活性化が IRAK-4 KO マウスと同様に認められ、IRAK-1/IRAK-4 非依存的な経路の存在が示唆された。

また以前、IRAK-4 が T 細胞における獲得免疫系を直接制御しているという報告がなされたが、KO マウスおよび KI マウスにおいて TCR 刺激に対する転写因子活性化、細胞応答に野生型との差異は認められなかつた。

[総 括]

本研究により、IRAK-4 のカイネース活性はその機能発現において必須であるということ、TLR 下流に MyD88 依存的で IRAK-1 および IRAK-4 非依存的なシグナル伝達経路が存在するということ、また IRAK-4 は TCR シグナリングにおいて報告されているような機能を示さないということが明らかとなつた。今後の IRAK-4 非依存性経路の解明は TLR シグナル伝達の包括的理理解につながると考えられる。また IRAK-4 カイネース活性を標的とした薬剤の開発は、敗血症性ショックの治療においても有用である可能性がある。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、Toll-like receptor 下流の分子である IRAK-4 に着目し、そのカイネース活性の生体内での機能を調べる目的で、IRAK-4 のカイネースドメインに塩基置換を導入したノックインマウスを作成し解析を行ったものである。その結果、IRAK-4 の機能発現においてそのカイネース活性が重要な役割を果たしているということが明らかとなつた。また Toll-like receptor 下流に MyD88 依存的で IRAK-4 非依存的なシグナル伝達経路が存在するということも明らかとなつた。今後、IRAK-4 のカイネース活性をターゲットとした免疫治療における創薬研究が期待される。本研究の内容は免疫学に対する貢献度が高く、申請者への学位授与に値すると考えられる。