The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Class-specific Regulation of Pro-inflammatory Genes by MyD88 Pathways and IκBζ
Author(s)	香山, 尚子
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49854
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

【19】

氏　　名	香山尚子（かやまひさこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　２２７２８　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Class-specific Regulation of Pro-inflammatory Genes by MyD88 Pathways and IκBζ （MyD88及びIκBζ依存的な炎症促進性遺伝子発現制御機構）
論文審査委員	（主査） 教　授　竹田　潔 （副査） 教　授　宮坂　昌之　　教　授　熊ノ郷　淳

論文内容の要旨

〔目的〕

マクロファージ（Mϕ）や樹状細胞といった自然免疫細胞では、Toll-like receptor (TLR)ファミリーにより病原体成分が認識されるとMyD88およびTRIFを介して様々な転写因子が活性化され、炎症性サイトカイン・ケモカインなどの遺伝子発現が誘導される。自然免疫系の活性制御機構の異常は適応免疫系のバランスの破錠をも誘発し自己免疫疾患および慢性炎症性疾患の原因とも成り得るため、自然免疫系の活性化においては各遺伝子の発現のタイミングが厳密に調節される必要がある。TLRのアダプター分子MyD88に依存し尚且つ転写因子NF-κBによって誘導される遺伝子は、早期誘導型遺伝子と遅期誘導型遺伝子の2群に大別されるがその詳細なメカニズムについては不明である。今回我々は、TLR-MyD88-NF-κB依存的遺伝子の発現に時間的差異を生じさせる分子メカニズムの解明を試みた。

〔方法と結果〕

Lipopolysaccharide (LPS)刺激をしたマクロファージよりRNAを回収しreal-time RT-PCRを行った結果、刺激後1時間以内にmRNAの発現がピークに達する「早期誘導型遺伝子」には*Cxcl2, Cxcl1, Tnf, Il23a*などが存在することが示された。また、刺激後3時間以降よりmRNAの発現が誘導される「遅期誘導型遺伝子」には*Lcn2, Il12b, Il6*などが存在することが明らかとなった。MyD88欠損マクロファージでは、遅期誘導型遺伝子のmRNA発現は完全に消失していたが早期誘導型遺伝子のmRNAは僅かではあるが発現が誘導されていた。クロマチン免疫沈降法(ChIP)を行った結果、早期誘導型の遺伝子プロモーターには刺激後NF-κBp65や基本転写因子の速やかな動員が観察されたが、遅期誘導型遺伝子では刺激後3時間まではそれらの動員が見られなかった。また、MyD88欠損マクロファージでは遅期誘導型遺伝子プロモーターへの転写調節因子群の動員は観察されなかった。これらの結果より、早期誘導型遺伝子群のプロモーターが転写因子群に対してアクセス能の高い状態にあること、また遅期誘導型遺伝子群のプロモーターでは刺激後MyD88依存的に転写因子群へのアクセス能が誘導されることが示唆された。また、ChIP法を用いた解析より、早期誘導型遺伝子プロモーターでは未刺激時より活性型遺伝子の指標であるヒストンH3 K4トリメチル化（H3 K4me3）の誘導およびATP依存的リモデリング因子BRG1の動員が観察された。反対に「遅期誘導型」遺伝子プロモーターでは、MyD88依存的にヒストンH3 K4me3, BRG1の動員が誘導されることが示された。早期誘導型遺伝子IκBζを恒常的に過剰発現させたRAW264.7マクロファージ細胞株では、コントロール細胞に比べ*Il12b, Il6, Lcn2* mRNAの発現が早く誘導された。また、ChIPの結果より、ヒストンH3 K4me3, 転写調節因子群の動員も速くなっていることが示された。さらに、IκBζ欠損マウス由来のマクロファージでは、遅期誘導型遺伝子プロモーターへの転写調節因子群の動員は消失しておりヒストンH3 K4me3も著しく減少していた。しかし、BRG1のリクルートは正常であった。早期誘導型遺伝子プロモーターにおいては、転写調節因子群・BRG1の動員、ヒストンH3 K4me3は正常に誘導されていた。

〔総括〕

以上の結果より、未刺激時のマクロファージでは早期誘導型遺伝子のクロマチン構造は開いた状態にあるが、遅期誘導型遺伝子のクロマチン構造は閉じた状態にあり両遺伝子群の発現の時間的差異はクロマチン構造の違いに起因することが明らかになった。さらに、一部の遅期誘導型遺伝子の転写活性化にはMyD88依存的なBRG1の動員によるヌクレオソーム構造変化と、早期誘導型遺伝子であるIκBζに依存したヒストンH3 K4me3および転写調節因子群の動員が必須であることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

マクロファージや樹状細胞といった自然免疫細胞では、Toll-like receptor (TLR)刺激によりMyD88/TRIF依存的シグナル伝達経路が活性化され炎症性サイトカインなどの遺伝子発現が誘導される。LPSにより誘導されるTLR/MyD88/NF-κB依存的遺伝子には早期誘導型遺伝子群と遅期誘導型遺伝子群が存在する。

本論文では、マクロファージにおいて早期誘導型遺伝子と遅期誘導型遺伝子の発現に時間差を生む原因が未刺激時の各遺伝子のプロモーターのクロマチン構造の違いにあることを明らかにした。また、未刺激時にはプロモーターのクロマチン構造が閉じた状態にある遅期誘導型遺伝子においては、早期誘導型遺伝子であるIκBζ依存的にクロマチン構造変化が誘導されることを明らかにした。

本研究の結果は、未だ不明な点の多いTLRを介した遺伝子発現制御機構の一部を解明しており、学位授与に値すると考えられる。