

Title	Critical Role of AZI2 in GM-CSF-Induced Dendritic Cell Differentiation
Author(s)	深坂, 昌弘
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50497
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

〔論文題名: Thesis Title〕

Critical Role of AZI2 in GM-CSF-Induced Dendritic Cell Differentiation
(GM-CSFによる樹状細胞分化誘導におけるAZI2の重要な役割)

学位申請者: 深坂 昌弘
Name

〔目的(Purpose)〕

TBK1はウイルスや病原体感染の際に活性化されるRIG1ファミリーやTLR3及びTLR4の下流に存在するシグナル伝達分子であり、I型インターフェロン産生には必須であるとされている。このTBK1の結合部位をもつ分子として現在、TANK, AZI2(別名NAP1), TBKBP1(別名SINTBAT)の3つが知られている(EMBO J, 2007, 26;3180-3190)。例えばTANKはRLRを介したI型インターフェロン産生には関与しないが、MyD88を介したシグナル伝達にTRAF6を介して負の制御分子として働き、そのノックアウトマウスは免疫細胞や破骨細胞の活性化により糸球体腎炎や骨粗鬆症を発症することが知られている(Nature Immunology, 2009, 10;965-972, J Biol Chem, 2012, 287;29114-29124)。一方で残りの2つの分子については、特に*in vivo*における機能についてははっきりとわかっていないのが現状であった。そこで本研究ではAZI2及びTBKBP1についてノックアウト(KO)マウスを作成し、その機能評価を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

我々はまずAZI2もしくはTBKBP1それぞれの、もしくは双方のKOマウスを作製した。各マウスからチオグリコレートによって惹起された腹腔マクロファージを採取し、ウイルス感染、もしくはPoly I:C, LPS, CpGを添加し、インターフェロン、もしくは炎症性サイトカインの産生を確認した。するとAZI2^{-/-}, TBKBP1^{-/-}, double KOすべての群で野生型と有意な差は確認されなかった。よってこれら2つの分子はRLRやTLR刺激後の反応には必須でないことが示唆される。

次に骨髄細胞をGM-CSFもしくはFLT3L存在下にて培養し、樹状細胞(DC)を誘導した。各種ウイルスやTLRリガンドで刺激したところ、AZI2^{-/-}もしくはdouble KOマウスについてのみGM-CSF由来DC(GM-DC)についてサイトカインの産生が優位に低下した。

AZI2^{-/-}由来GM-DCはDCのマーカーであるCD11c発現細胞の割合が低下していた。野生型とAZI2^{-/-}由来のGM-DCのCD11c⁺分画のみを採取し、同細胞数でのTLRリガンド刺激後のサイトカイン産生量は同程度であった。すなわちAZI2^{-/-}由来のGM-DCではCD11c⁻の未分化な細胞が多く残っており、AZI2は骨髄細胞からGM-DCへの分化誘導の際に必須である分子と示唆される。

GM-DCは骨髄細胞をGM-CSF存在下で約1週間培養することで得られるが、AZI2^{-/-}由来の骨髄細胞では、早期(2日目)の段階でCD11c発現細胞割合、総細胞数が少なく細胞周期がうまく働いていないことが確認された。一方でGM-CSFのレセプター結合後のシグナル伝達には野生型、AZI2^{-/-}共に差は確認されなかった。AZI2^{-/-}由来骨髄細胞へのレトロウイルス導入実験にて、AZI2のTBK1結合領域がこのDCへの分化誘導に必須であることが示され、またTBK1の過剰発現によりGM-DCの正常な分化誘導が確認された。

〔総括(Conclusion)〕

AZI2やTBKBP1はRLRやTLRを介した刺激の際に必要な分子ではないことが確認された。一方でAZI2は、骨髄細胞のGM-CSFによる分化誘導の際に必須の分子であることが明らかとなり、その作用はTBK1分子を介して細胞増殖を活性化させるものである。野生型骨髄細胞にAZI2を過剰発現させることで通常より多くGM-DCを産生できることも確認されており、AZI2を利用した*ex vivo*における癌の樹状細胞療法への応用にも期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 深坂 昌弘

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 審良 静男
	副 査	大阪大学教授 荒瀬 高
	副 査	大阪大学教授 竹田 潔

論文審査の結果の要旨

TBK1分子は、自然免疫活性化の際に必須のシグナル伝達分子であり、Toll-like receptor (TLR) やRIGI-like receptor (RLR) 刺激の際にIRF3, IRF7をリン酸化し、I型インターフェロン産生を誘導する。このTBK1の結合領域を持つ分子ファミリーとしてAZI2, TBKBP1, TANKの3つの分子が知られている。このうちのTANKについてはすでにノックアウト (KO) マウスを用いた検討が報告されており、今回著者らは残り2つの分子のKOマウスを作成し、*in vivo*における機能解析を行った。

AZI2やTBKBP1はRLRやTLRを介した刺激の際に関与しないことが確認された。一方でAZI2は、骨髄細胞のGM-CSFによる樹状細胞分化誘導の際に必須の分子であることが明らかとなった。その作用はTBK1分子を介して細胞の分化、増殖を活性化させるものである。野生型骨髄細胞にAZI2を過剰発現させることで通常より多くGM-DCを産生できることも確認されており、AZI2を利用した*ex vivo*における癌の樹状細胞療法への応用にも期待される。

本報告はAZI2分子の新たな機能についてKOマウスを作成し、見出したものである。よって本論文は博士(医学)の学位授与に値する。