

## 論文の内容の要旨

論文題目 IRF-2 による造血系細胞分化の調節機構

指導教官 谷口維紹 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 15 年 4 月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

水谷 龍明

本研究は、I 型インターフェロン(I 型 IFN)シグナルを負に調節する転写因子 IRF-2 の遺伝子欠損マウスの解析を通じて、I 型 IFN による造血系細胞の分化抑制現象及びその分子メカニズムを解析したものである。本研究により、造血系細胞の分化に I 型 IFN シグナルが負に働くことが示されると同時に、転写因子 IRF-2 の造血系細胞分化における重要性が明らかとなった。

### 1. *Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化異常

IRF-2 は I 型 IFN シグナルの負の制御因子である。近年、樹状細胞の機能制御に I 型 IFN シグナルが重要な役割をもつことが示されており、I 型 IFN シグナルを調節する転写因子 IRF ファミリーの樹状細胞における役割も注目されている。そこで、IRF ファミリーの中でも、負の調節因子である IRF-2 に注目し、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスの解析を行った。

はじめに、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウス脾臓の免疫組織染色ならびに FACS 解析から、樹状細胞数が野生型に比べて減少していることが見出された。*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスの脾臓及び骨髄を用い、詳細な FACS 解析を行ったところ、Myeloid 樹状細胞：CD11c 陽性、CD11b 陽性、CD8 $\alpha$ 陰性細胞の分化が抑制されていることがわかった。この樹状細胞分化の異常は、*in vitro* の培養系においても観察され、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウス由来骨髄細胞では正常な樹状細胞への分化誘導が起こらなかった。また、この

時の培養系において mRNA の誘導を real time RT-PCR で解析したところ、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウス由来の骨髄細胞において、I 型 IFN 及び I 型 IFN 誘導遺伝子の発現が野生型マウスに比べ高いレベルで検出された。さらに、野生型マウス由来骨髄細胞を用いて、培養上清中に I 型 IFN を加えた状態で同様の実験を行った場合、I 型 IFN 濃度依存的に樹状細胞の分化が抑制された。これらの結果から、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化の異常は、過剰な I 型 IFN シグナルにより引き起こされていると推察された。実際に、IFN 受容体 1 (*Ifnar1*) 遺伝子欠損マウスを利用して、*Irf2*<sup>-/-</sup>/*Ifnar1*<sup>+/-</sup>マウスを作成したところ、樹状細胞分化は正常に回復した。

以上より、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化異常は、I 型 IFN シグナル依存的に引き起こされていることが示された。

## 2. *Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける赤血球分化異常

I 型 IFN は、抗ウイルス、抗がん作用を持つことから、それらに対する治療に用いられているが、副作用として骨髄系細胞の増殖を抑制してしまう働きをもつため、貧血症状が引き起こされることが以前より知られていた。このような I 型 IFN による骨髄抑制効果は治療の妨げとなるが、その分子メカニズムには不明な点が多かった。そこで、定常的に I 型 IFN シグナルが強く入力されている *Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化異常マウスを用いて、I 型 IFN 依存的貧血症状の分子メカニズムを解析した。

はじめに、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化異常マウスの末梢血の血球算定を行ったところ、赤血球数の減少が見られ、正球性正色素性貧血に分類される定常的貧血症状が確認された。次に、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化異常マウスの骨髄中の赤芽球分布を FACS 解析したところ、Ter119 陽性、CD71 陰性の成熟赤血球が減弱しており、前赤芽球ならびに赤芽球から成熟赤血球への分化移行段階が抑制されていることが示唆された。また、定常状態の *Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける樹状細胞分化異常マウス骨髄細胞の mRNA 発現プロファイルを解析したところ、IFN- $\beta$ や I 型 IFN 誘導遺伝子の発現が野生型に比べて異常に高い一方で、*Bcl-xL* の発現が野生型に比べて抑制されていることがわかった。*Bcl-xL* は、赤芽球分化において重要な役割を持つ生存因子の一つである。確かに、定常状態における *Irf2*<sup>-/-</sup>マウス赤血球系細胞のアポトーシスを解析したところ、野生型に比べて *Irf2*<sup>-/-</sup>赤血球系細胞において高頻度のアポトーシスが検出されたことから、*Bcl-xL* の発現低下によるアポトーシス誘導が赤血球分化抑制につながるかと推察された。さらに、野生型骨髄細胞を用いて I 型 IFN により *Bcl-xL* 発現が直接的に抑制されるのかを検討したところ、EPO 依存的に発現誘導される

Bcl-xL の mRNA 発現レベルは、外部より I 型 IFN を添加することで強力に抑制された。一方で、*Ifnar1*<sup>-/-</sup>マウスにおいては抹消血中の赤血球数及び骨髄内成熟赤血球数が野生型に比べて増加しており、さらには、*Irf2*<sup>-/-</sup>/*Ifnar1*<sup>-/-</sup>とすることで、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスに見られる赤芽球分布異常、Bcl-xL mRNA 誘導の減弱、赤血球系細胞のアポトーシスの亢進のいずれの現象も正常に回復された。これらの結果から、*Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおける赤血球分化抑制現象は、I 型 IFN シグナルに依存しており、さらに、I 型 IFN による Bcl-xL の発現抑制に起因することが強く示唆された。

本研究から *Irf2*<sup>-/-</sup>マウスにおいて、I 型 IFN シグナル依存的に造血系細胞の分化・増殖抑制が起こることが示され、IRF-2 の構成的 I 型 IFN シグナルに対する負の制御が造血系細胞の分化・増殖に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。