

プログラム細胞死であるアポトーシスは自己の組織のターンオーバーやダメージを受けた細胞を除去するのに必要である。その実行はカスパーゼ (caspase) をはじめとした一群のアポトーシス遺伝子によって厳密かつ多重に制御されており、生体の恒常性維持において重要な役割を果たしている。一方、その破綻はネクロシス (necrosis) や組織傷害を引き起こし、内在性ストレスの原因になる可能性が示唆されている。しかし、危険因子を含む内在性因子を介した生体ストレス応答の組織、個体レベルでの解析は未だ少なく、自己由来の物質に応答するシグナルメカニズムの多くは明らかになっていない。本研究では、遺伝学的な解析手法が高度に発達したショウジョウバエを用いて、アポトーシス不全系統であるイニシエーターカスパーゼ *dronc* 変異体において内在性因子による自然免疫応答の活性化を見いだした。

ショウジョウバエ胚でのアポトーシスは、イニシエーターカスパーゼ *dronc* を経由して、細胞死実行カスパーゼが活性化されておこる。まず、野生型および *dronc* null 変異体 *dronc*<sup>448</sup> 3 齢幼虫に対して、定量的 RT-PCR を行い、ストレス反応経路の転写産物の mRNA の量を測定することによって、ストレス経路の活性化を検討した。この解析から、*dronc*<sup>448</sup> 変異体においては、主要な自然免疫機構である Toll 経路が特異的に活性化していることを見いだした。病原性シグナルによる Toll 経路の活性化は種を超えて広く保存されており、自然免疫システムの中で中心的な役割を果たしている。ショウジョウバエにおいて、Toll 経路は細胞膜に存在する Toll 様受容体を介して活性化され、真菌や大部分のグラム陽性細菌の感染に対する体液性の防御応答に必要であり、その下流で抗菌ペプチドを産生する。*Dronc*<sup>448</sup> 変異体における Toll 経路の活性化は Germ-free (無菌) ショウジョウバエでもみられることから、この現象が細菌感染とは無関係であり、自己由来の内在性因子によって引き起こされることが示唆された。また、*dronc*<sup>448</sup> 変異体の脂肪体 (ショウジョウバエの主要免疫組織) における免疫染色の観察から、Toll 経路の下流にある転写因子 Dorsal (NF- $\kappa$ B) の核移行が起きていることが明らかになった。さらに、変異体に野生型 *dronc* を強制発現させた個体において、Dorsal の核移行は阻害されたが、*dronc* の活性中心に変異を持つ変異体

を発現した個体では見られなかった。以上の結果から、*dronc*<sup>4A8</sup> 変異体における Toll 経路の活性化が、カスパーゼ酵素活性不全によるものであることが確認された。さらに、変異体脂肪体における Toll 経路活性化が *dronc* 欠損による細胞自律的な反応ではないことが脂肪体におけるモザイククローン解析によって分かった。ショウジョウバエの 3 齢幼虫ではさまざまな組織のアポトーシスが知られ、その不全による組織傷害やストレス因子の体液中への放出が考えられた。

感染によるショウジョウバエ Toll 経路の活性化は Toll 受容体を介して引き起こされる。このプロセスにおいては、Toll 受容体と細胞外リガンド Spätzle の切断による活性化が必要である。*dronc*<sup>4A8</sup> 変異体の体液では細胞外リガンド Spätzle が切断されていた。さらに遺伝学的解析の結果では、Spätzle 及び Toll 受容体細胞内領域に結合するアダプター分子 dMyD88 の変異によって、Toll 経路の活性化が起きなくなることが明らかになった。これら結果から、アポトーシス不全により炎症性液性因子が体液中に放出され、それによって古典的な Toll 経路が活性化していることが示唆された。

ショウジョウバエの自然免疫応答は、抗菌ペプチドの産生による体液性免疫および血球細胞による細胞性免疫の 2 つに大きく分けられる。*dronc*<sup>4A8</sup> 変異体において、細胞性免疫について検証したところ、循環血球細胞数の増加が観察された。さらに、血球細胞においても Toll 経路の活性化が起きていることが、Dorsal の免疫染色によって示された。*dronc*<sup>4A8</sup> 変異体における Toll 経路の活性化が血球細胞の増殖あるいはリンパ腺からの放出に関わっていると考えられる。

アポトーシスは生体恒常性の維持に重要であり、その破綻は組織傷害を引き起こし、内在性ストレスの発生及び自己免疫反応に関与することが示唆されている。自己組織からの内在性因子による自然免疫の活性化は、糖尿病や肥満症、アテローム性動脈硬化などの幾つかの疾患に見られている。しかし自己由来の免疫原の実体、認識機構及びシグナル伝達のメカニズムの多くは未だ不明である。ショウジョウバエは獲得免疫を持たないため、ヒトとよく保存されている自然免疫のみで多様な刺激から生体を防御している。本研究で見出したアポトーシス変異体における内在性因子による自然免疫系の活性化は、この問題に遺伝学的にアプローチできる優れたモデルであり、今後分子レベルでのメカニズム解明が期待される。以上より、本研究は博士（薬学）の学位に値すると判定した。