

論文内容要旨

Acquired Deficiency of A20 Results in Rapid Apoptosis, Systemic Inflammation, and Abnormal Hematopoietic Stem Cell Function.

(脱ユビキチン化酵素A20の後天的な欠損はアポトーシス、全身性炎症、造血幹細胞の機能異常を誘導する)

PLOS ONE, 9 (1) : e87425, 2014.

主指導教員：本田 浩章教授

(原爆放射線医科学研究所疾患モデル解析)

副指導教員：稲葉 俊哉教授

(原爆放射線医科学研究所がん分子病態)

副指導教員：菅野 雅元教授

(基礎生命科学部門 免疫学)

中田 雄一郎

医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻

これまでの研究から、染色体の転座、遺伝子の欠損、遺伝子数のコピー異常などのゲノム異常によってがん化が促進されることが知られている。最近、我々のグループが造血器腫瘍の患者の遺伝子コピー数の異常及びアレル異常を検索した結果、悪性リンパ腫において6番染色体に位置するA20が両アレルで欠損していることを見出した。A20は脱ユビキチン化酵素をコードする遺伝子であり、その酵素活性により炎症性サイトカインからのシグナルによる転写因子NF- κ Bを負に制御し、細胞内のホメオスタシスを調節する遺伝子である。これまでに、A20の欠失や不活性化型の変異が自己免疫疾患の発症原因のひとつとして報告されている。しかし、正常造血での造血幹細胞(HSC)の制御機構や造血器腫瘍の発症機序におけるA20の機能についてはまだ不明な点が多い。先天的にA20をノックアウト(KO)したマウスは、生後約1週間で激しい全身性の炎症により死亡するため、このマウスを用いた生体造血の解析は困難である。そこで、我々はCre-loxPシステムを利用して後天的にA20の欠損を誘導可能にしたコンディショナルノックアウト(cKO)マウスを作製し、生体造血におけるA20欠損の生物学的機能及び疾患発症への意義について解析を行った。

A20 cKO マウスは離乳後徐々に羸瘦と貧血を呈し、高頻度で死亡した。病理学的解析では脾臓と肝臓の腫大、および主要臓器に炎症細胞の浸潤を認め、末梢血および脾臓では骨髄球系細胞の増加とアポトーシスによるB細胞の減少を認めた。血清における炎症性サイトカインの測定を行なったところ、TNF α 、IFN γ 、GM-CSF、IL-1 β の上昇を認め、上記の表現型は先天的なA20 KOマウスと同じく全身炎症によるものと考えられた。

今回作製したA20 cKO マウスは造血細胞以外にも造血微小環境を構成する細胞群でA20が欠損している。上記の表現型が造血細胞自律的なものかどうかを検討する目的で、コントロールマウスとA20 cKO マウスから骨髄細胞を単離し、致死量の放射線を照射したレシピエントマウスに骨髄移植を行った。その結果、A20 cKO マウス由来の骨髄細胞を移植したレシピエントでは、脾臓の腫大、全身臓器への炎症細胞の浸潤、貧血、骨髄球系細胞の増加、およびリンパ球系細胞の減少というA20 cKO マウスとほぼ同じ表現型を認め、全身性の炎症反応はA20が欠損した造血細胞に起因していることが明らかとなった。さらにA20 cKO マウス由来の骨髄細胞を移植したレシピエントは、移植後一ヶ月以内に全例が死亡し、A20を欠損したHSCは骨髄再構築能に障害を有すると考えられた。

そこで、A20 cKO マウスのHSCの機能について詳細な解析を行った。HSCのシグナル伝達系におけるA20欠損の影響を検討するために、マウスの骨髄からLineage陰性CD150陽性CD48陰性HSC細胞を単離し、NF- κ Bに対する抗体を用いて蛍光免疫染色を行った。その結果、A20 cKO マウスのHSCではNF- κ Bの核移行の増加を認め、恒常的にNF- κ Bが活性化されていることが明らかとなった。また、HSCの細胞周期を検討した結果、A20 cKO マウスのHSCはコントロールマウスのHSCと比較して細胞周期が亢進しており、その結果移植後の生着能が障害されていると考えられた。

この研究では、A20 cKO マウスを作製することにより、後天性A20の欠損はサイトカイン産生の脱制御による炎症の持続を誘導し、その結果マウスは貧血、骨髄球系の過増殖、B細胞アポ

トーシス、および炎症細胞の全身浸潤により死亡することを明らかとした。また、A20 を欠損した HSC では転写因子 NF- κ B の恒常的な活性化、細胞周期の亢進を認め、その結果として骨髄再構築能の低下を呈することも併せて示した。これらの結果は、A20 は炎症およびアポトーシスを制御することにより生体恒常性に必須の役割を果たしていることを証明したものである。今後は、A20 欠損による炎症と腫瘍発症との関連について検討を行って行く予定である。