

添付資料：

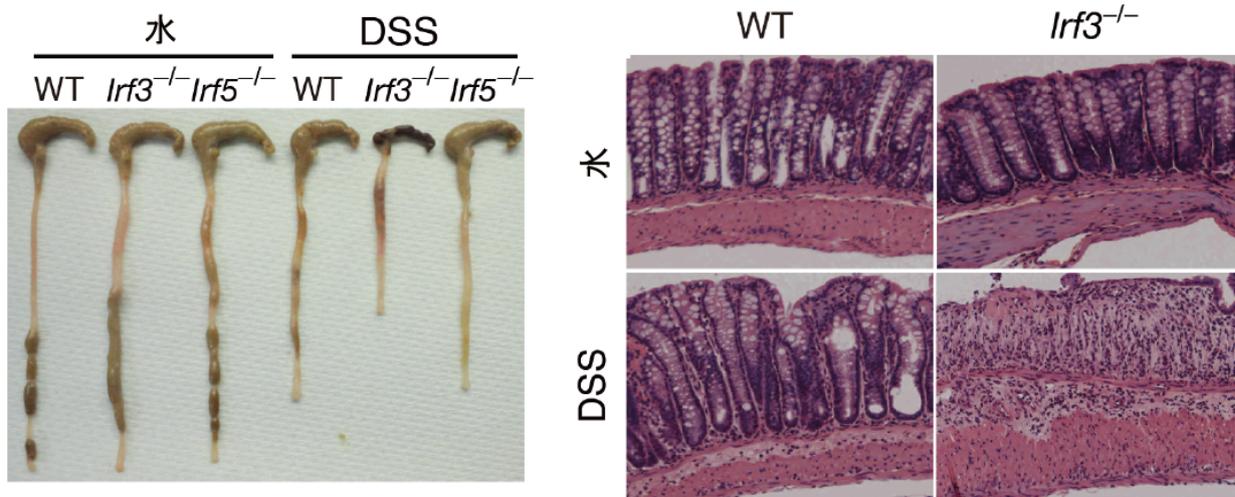


図. 1 IRF3 欠損マウスにおける DSS 誘導性大腸炎

野生型、IRF3 欠損 (IRF3<sup>-/-</sup>) および IRF5 欠損 (IRF5<sup>-/-</sup>) マウスにおいて、2%DSS の投与から 8 日後に大腸を摘出し、撮影した (右図)。野生型と比較し、IRF3 欠損マウスでは大腸の長さが著明に短くなった。

同様の大腸を固定後、組織切片を作成し、HE 染色を行った (右図)。IRF3 欠損マウスの大腸では著明な細胞浸潤と組織構造の破壊が観察された。これらの結果は IRF3 欠損マウスにおいて著明な大腸炎が起きている事を示している。

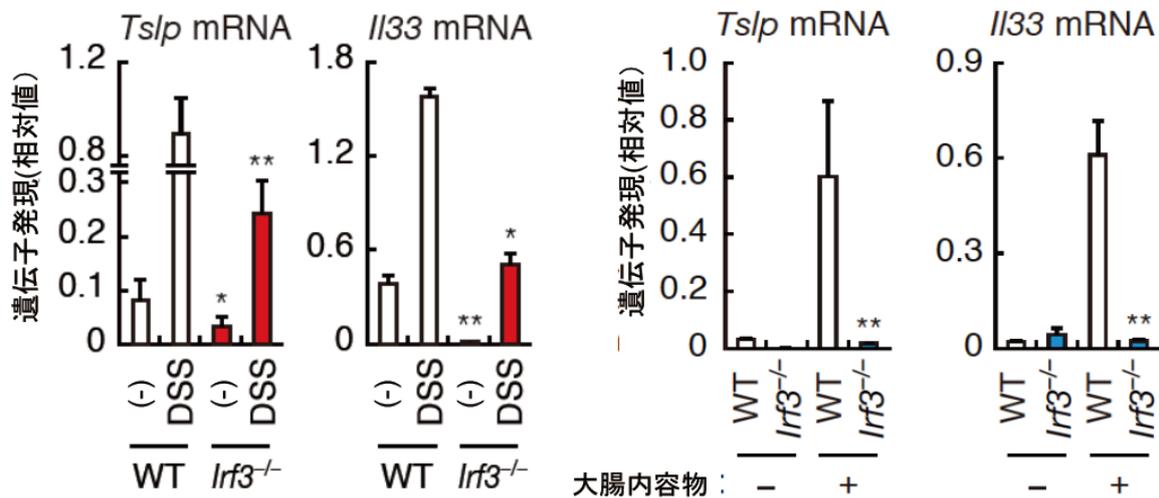


図. 2 IRF3 欠損マウス大腸および IRF3 欠損細胞における TSLP/IL-33 mRNA の発現

野生型または IRF3 欠損マウスにおいて、2%DSS の投与前および投与 8 日後の大腸を摘出し、TSLP/IL-33 の mRNA 発現を RTPCR によって解析した (左図)。2%DSS の投与前および投与後のいずれにおいても、IRF3 欠損マウス大腸で、TSLP/IL-33 mRNA の著明な減弱がみられた。

マウス大腸内容物 (便の懸濁液) によって、マウス胎児繊維芽細胞を 3 時間刺激後、RTPCR によって TSLP および IL-33 の mRNA 発現を解析した (右図)。IRF3 欠損細胞において、TSLP/IL-33 mRNA の著明な減弱がみられた。\**p*<0.05、\*\**p*<0.01

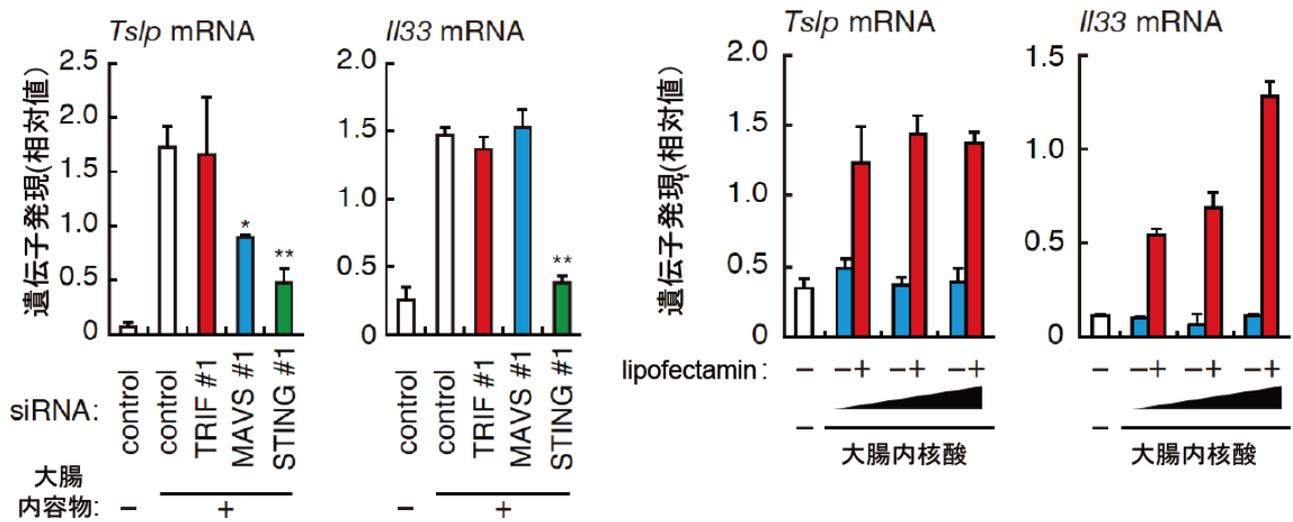
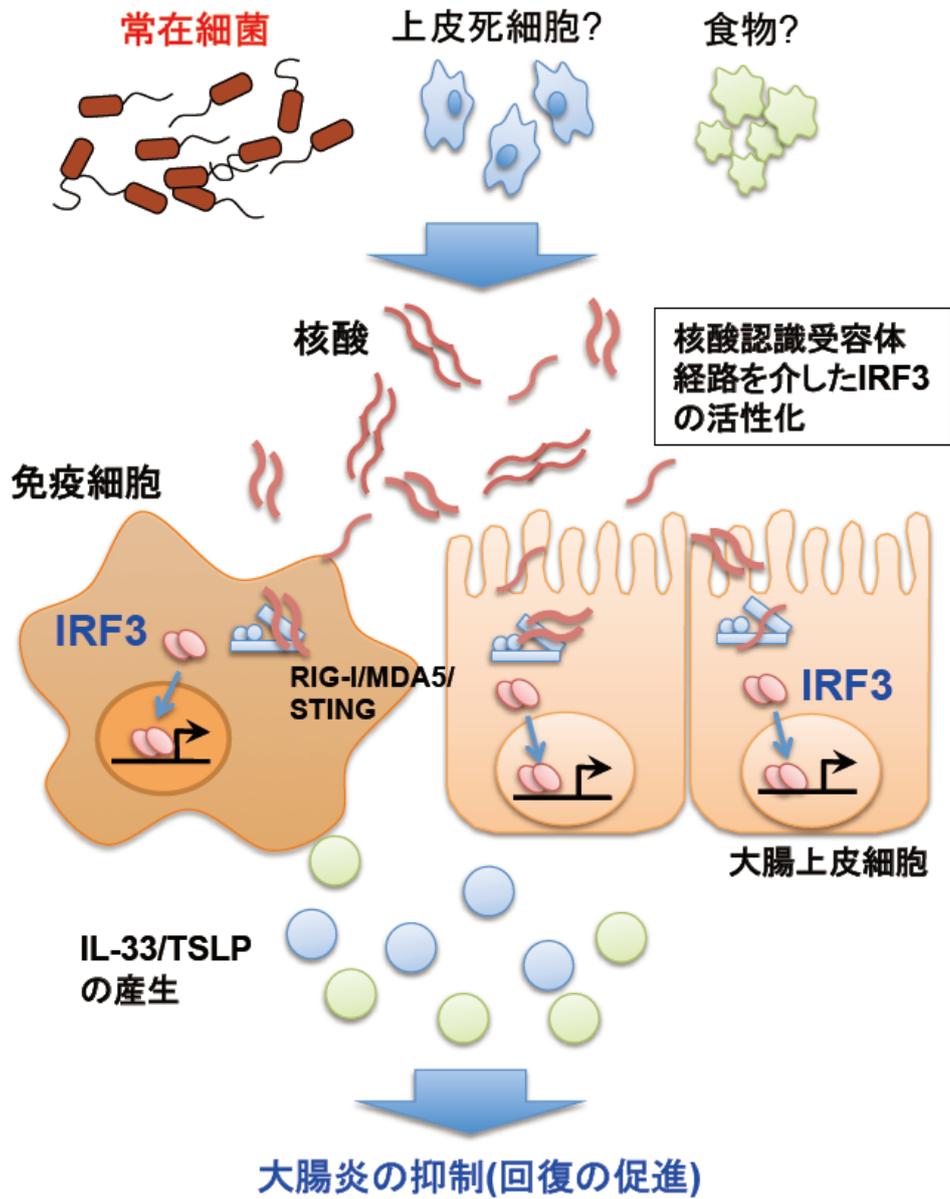


図. 3 大腸内容物に含まれる核酸による TSLP/IL-33 遺伝子の発現

マウス胎児繊維芽細胞において、IRF3の活性化に関わるシグナル経路のアダプター分子 (TRIF、MAVS、STING) を siRNA によってノックダウンした。これらの細胞を、大腸内容物で3時間刺激後、RTPCRによって mRNA の発現を解析した(左図)。STING のノックダウンによって TSLP/IL-33 mRNA が、MAVS のノックダウンによって TSLP の mRNA が著明に減弱した。

大腸内容物から抽出した核酸によって、マウス胎児繊維芽細胞を3時間刺激後、RTPCRによって TSLP および IL-33 mRNA の発現を解析した(右図)。核酸と lipofectamin(核酸の細胞質への輸送を補助する薬剤)を混合することで、TSLP および IL-33 mRNA の発現が誘導された。

\* $p < 0.05$ 、\*\* $p < 0.01$



#### 研究成果の概略図

大腸では、大腸内に含まれる核酸成分が免疫細胞や大腸上皮細胞を活性化し、常時、大腸炎からの回復に寄与するサイトカイン、TSLP および IL-33 の遺伝子発現が誘導されている。このような発現誘導に細胞室内核酸認識受容体経路が関わっており、IRF3 が必須の役割を担っている。