

マウス 2-5OAS ファミリー遺伝子 KO マウスの作製

生体における遺伝子の機能を検討する有効な方法として、KO マウスの作製が挙げられる。これまでに RNase L KO マウスでは全般的なアポトーシス感受性の低下による胸腺の肥大が認められるなど、予想外の機能の発見に有効であることが知られている。そこで 2-5OAS 遺伝子 KO マウスの作製を計画した。これまでの研究で明らかになったように、マウスでは 2-5OAS 遺伝子は少なくとも 11 個の遺伝子からなるファミリーを形成していることから、単純な KO マウスの作製では解析が困難であることが予想された。そこで、2-5OAS の機能を評価するために、主要な 2-5OAS 遺伝子 KO マウスを作製するとともに、2-5OAS 遺伝子領域を欠損させた KO マウスを作製することを計画した (図 3.3.13A)。すなわち、①2-5OAS 領域の 5' 側から 2 番目の主要 2-5OAS (マウス OAS1 ホモログ) である *Oas1a* 遺伝子を破壊したマウスを作製しつつ、その 5' 上流約 7kb に 2-5OAS 領域の 5' 末端として転写方向が逆向きに存在する *Oas1g* 遺伝子の第 1 イントロンに loxP 配列を挿入する。一方、②2-5OAS 領域の 3' 末端に存在する *Oas2* 遺伝子を破壊しつつ loxP 配列も導入するという、2 つの遺伝子ターゲティングを行う計画である。まず、①をネオマイシン耐性遺伝子 (neo) を選択マーカーとして相同組み換え ES クローンを単離したのち、この ES クローンを用いて②をハイグロマイシン耐性遺伝子 (hgh) を選択マーカーとして相同組み換え ES クローンを単離する。異なる染色体上での相同組み換え体は単独 KO マウスができ (図 3.3.13B)、同一染色体上で相同組み換えが起こったクローンでは Cre リコンビナーゼを発現させることにより、約 220kb の 2-5OAS 領域を欠損した KO マウスができる。

まず①の KO マウスを作製するために、ターゲティングベクターを構築した (図 3.3.14)。相同組み換え体は 3' 側プローブを用いて、*Eco* RI によるサザンハイブリダイゼーションによってスクリーニングを行った。210 個のネオマイシン耐性 ES クローンについてサザンハイブリダイゼーションを行い検討したところ、4 つの相同組み換え体 (1A2, 2D2, 4B1, 5C5) が得られた。この 4 つのクローンについて 5' 側の loxP 配列部位についての *Bam* HI によるサザンハイブリダイゼーションを行ったところ、3 つのクローン (1A2, 2D2, 5C5) が loxP 配列を含んでいることが確認できた (図 3.3.15)。これは、PCR 法によっても同様の結果が得られた (図示さず)。5' 側が野生型と同じだった 4B1 クローンは、loxP 配列の内側の約 7.5kb の相同領域で相同組み換えが起きたクローンであると考

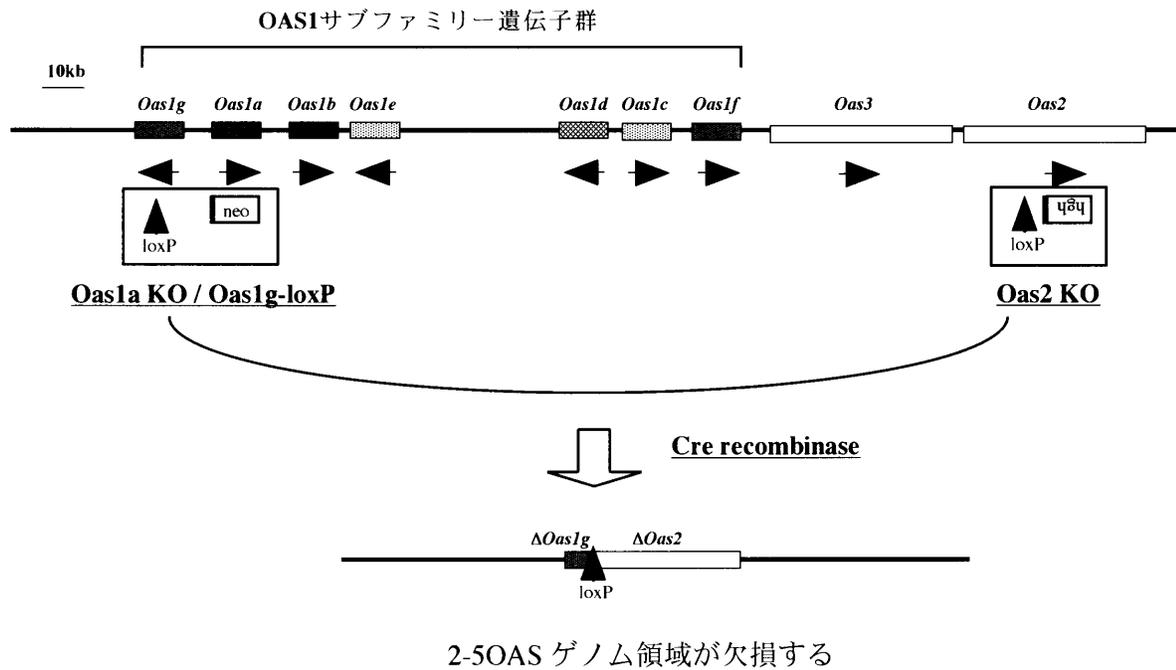
えられた。

3つの相同組み換え ES クローン (1A2, 2D2, 5C5) についてアグリゲーションキメラ作製法によりキメラマウスを作製したところ、5C5 クローンより3匹の生殖系列キメラマウスが得られ、KO 遺伝子座の伝達が確認された (図 3.3.16)。現在、このヘテロ欠損マウスの交配によりホモ欠損マウスの生産を試みているところである。

同時に、②の KO マウス作製のため、第2のターゲティングベクターを構築し (図 3.3.17)、生殖系列への伝達を確認された ES クローン 5C5 を用いて相同組み換え体のスクリーニングを計画している。

(A)

2-5OAS ゲノム領域



(B)

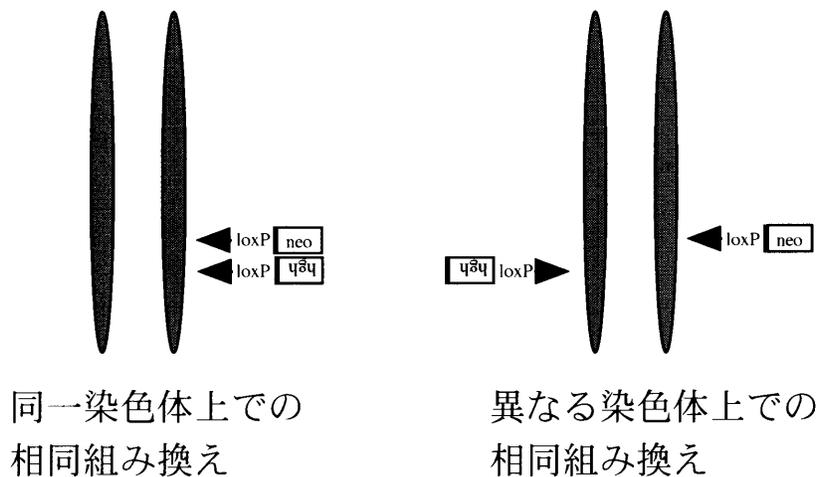
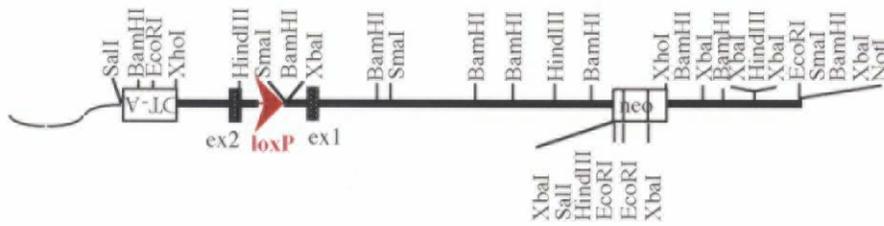


図3.4.13 2-5OAS遺伝子領域KOマウス作成のストラテジー

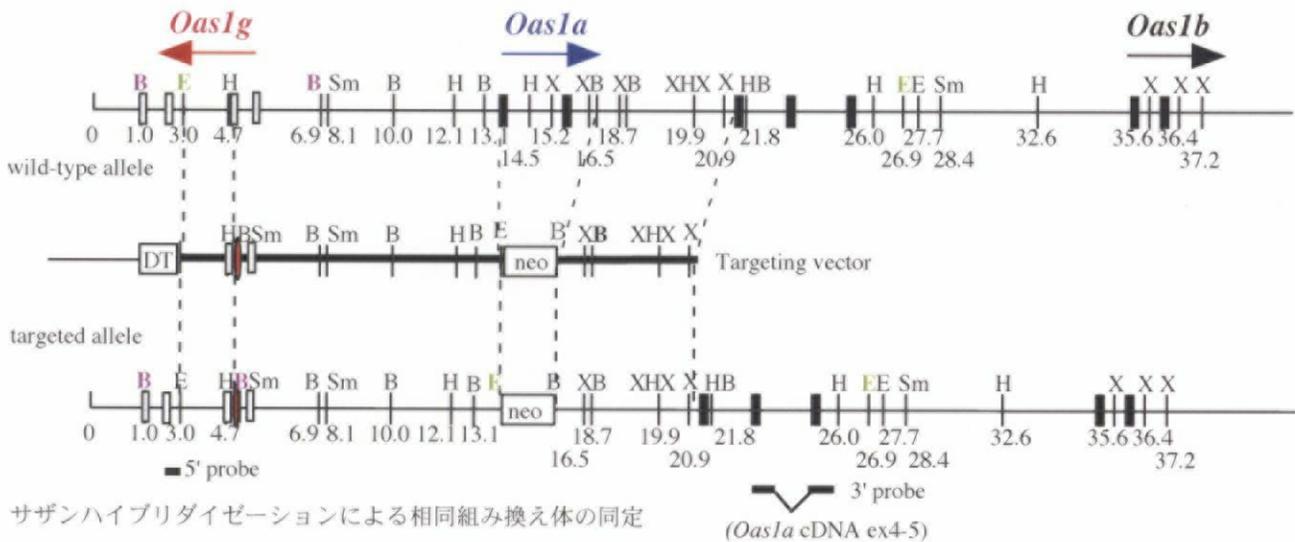
(A) 2-5OAS遺伝子領域の5'末端の*Oas1g*遺伝子座と3'末端の*Oas2*遺伝子座に loxP配列を導入し、Cre組み換え酵素を利用することにより遺伝子領域の削除が可能となる

(B) 理論上得られる二重相同組み換え体の染色体上の位置関係

(A)



(B)



サザンハイブリダイゼーションによる相同組み換え体の同定

BamHI digest; 5' probe wt : 5.9 kb mt : 4.0 kb

EcoRI digest; 3' probe wt : 23.9 kb mt : 12.1 kb

図3.4.14 *Oas1a* KO/*Oas1g-loxP*マウス作成のストラテジー

(A) ターゲティングベクター

*Oas1a*遺伝子のエクソン1と2を欠損させ、同時に*Oas1g*遺伝子の第1イントロンにloxP配列を挿入する

(B) 相同組み換えの模式図

相同組み換え体はサザンハイブリダイゼーションにより同定できる

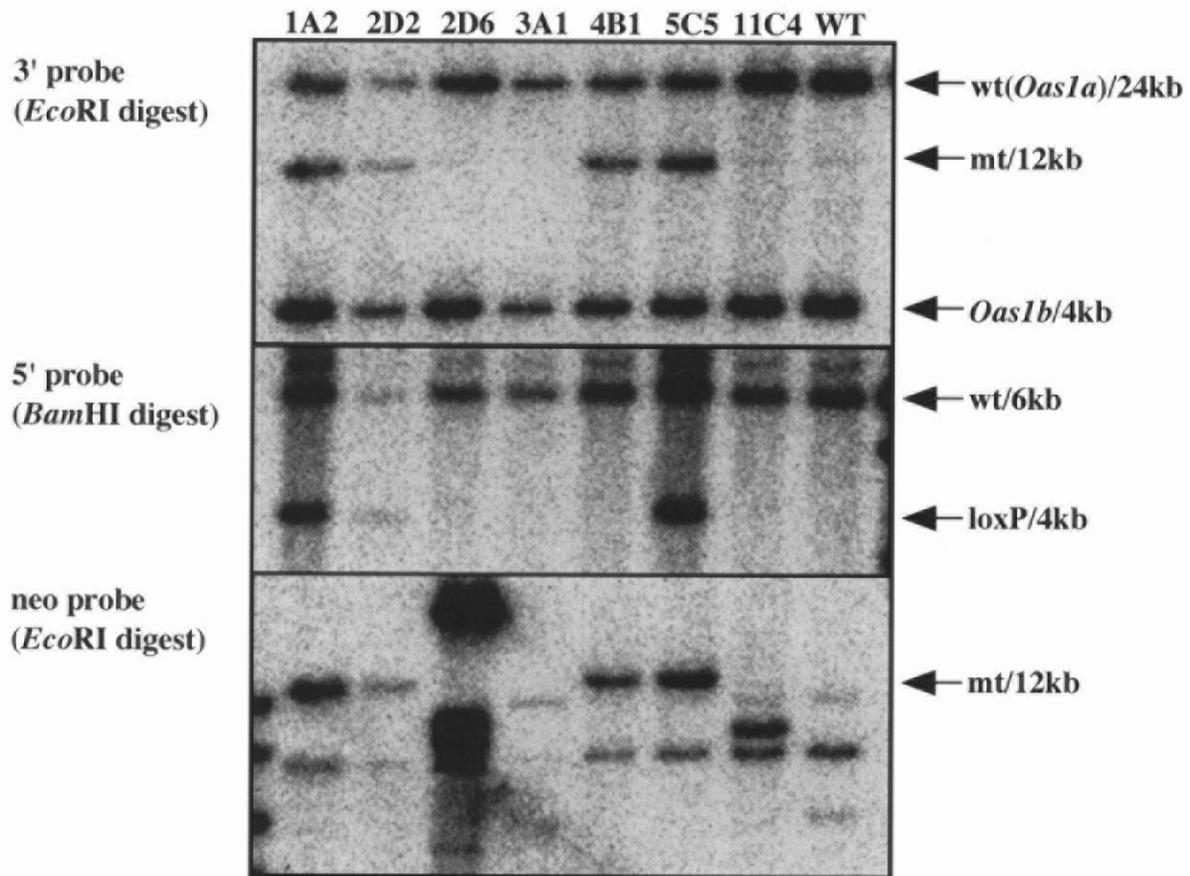


図3.4.15 *Oas1a* KO/*Oas1g-loxP*相同組み換えES細胞の単離・同定
 サザンハイブリダイゼーションによる相同組み換え体の同定を行った。
*EcoRI*処理した場合、3'側プローブでは相同組み換え体は12kbの特異的な
 バンドが得られる（野生型は23.9kbと4.0kb）。
*BamHI*処理した場合、5'側プローブではloxP配列が挿入されたクローンは
 4.0kbの特異的なバンドが同様に得られる（野生型は4.0kb）。
*EcoRI*処理により、ネオマイシン遺伝子の挿入も確認できる（12kb）。

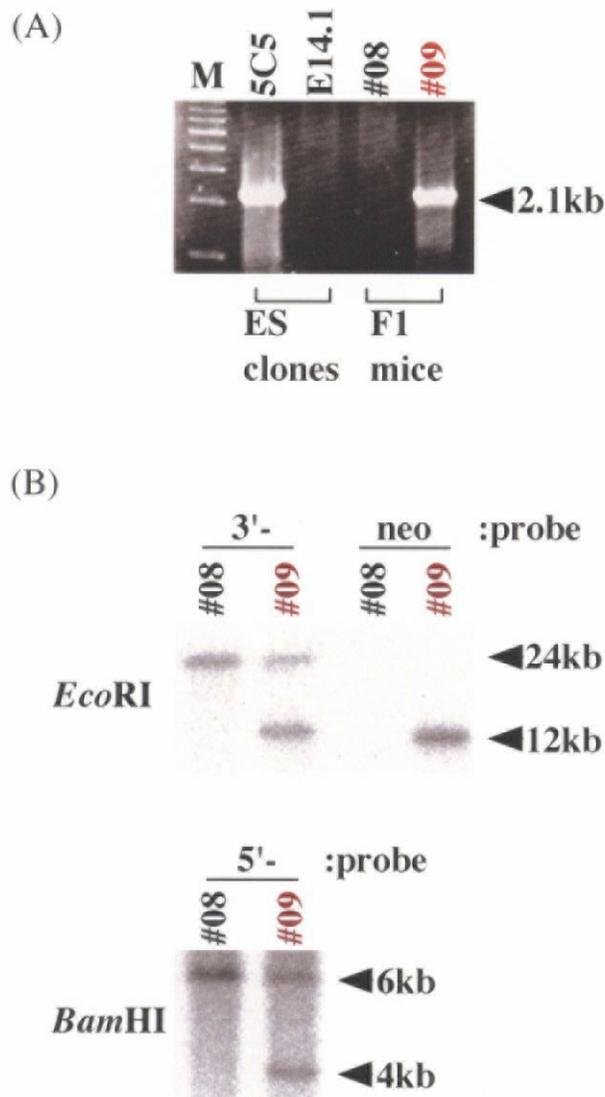


図3.4.16 *Oas1a* KO/*Oas1g-loxP*キメラマウスの仔マウスのKO遺伝子座の伝達の確認

Oas1a KO/*Oas1g-loxP*キメラ (♂) とC57BL/6J (♀) マウスの交配から得られた毛色が野生色のマウスについて、尾から抽出したDNAを用いてKO遺伝子座の伝達の確認をPCR法およびサザンハイブリダイゼーション法によって行った。(A) PCR法による確認：loxP部分に設定したプライマーを用いたPCR法により、KO遺伝子座が伝達された個体からは2.1kbの特異的なバンドが得られる。(B) サザンハイブリダイゼーションによる確認：*EcoRI*処理した場合、3'側およびネオマイシン耐性遺伝子プロンプではKO遺伝子座は12kbの特異的なバンドが得られる。*BamHI*処理した場合、5'側プロンプでは4kbの特異的なバンドが得られる。

E14.1：ES細胞親株、5C5：相同組み換えES細胞親株、#08, #09：仔マウスの個体番号。#09がKO遺伝子座が伝達されたヘテロマウス。

3.5 考察

本研究により、マウス 2-5OAS 遺伝子は4つのクラスに分けられる少なくとも11個の独立した遺伝子よりなるファミリーを形成していることが明らかにした。特にマウス（齧歯類）では、ヒトでは1つの遺伝子として存在している OAS1、OASL 遺伝子が遺伝子増幅により複数存在していた。そこで、OAS1 サブファミリーとして、これまで報告されていた遺伝子名を以下のように変更し、整理することを提案したい。すなわち、L3/S(+)を *Oas1a* に、L2/S(-)を *Oas1b* に、*Oas15* を *Oas1c* に、L1 を *Oas1d* とし、今回新規にクローニングした遺伝子を *Oas1e*、*Oas1f*、*Oas1g* と命名した。同様に、OASL サブファミリーについても、既に報告のあった *Oasl/p54* を *Oasl1* と変更して、今回新たにクローニングした OASL ホモログを *Oasl2* と命名した（表 3.4.1）。

マウスゲノムの解析から、OAS1 サブファミリー遺伝子は *Oas3* および *Oas2* 遺伝子の 5'上流にクラスターを形成して存在しており、ヒトのゲノムと同じ順番となっていることがわかった。HTGS (High Throughput Genomic Sequence) データベースを検索したところ、マウスゲノム 2-5OAS 領域のドラフトシーケンス (accession: AC015535) が公開されており、OAS1 サブファミリー領域の塩基配列の一部が明らかになっていた。この配列を詳細に検討したところ、本研究で明らかにした OAS1 サブファミリー遺伝子の他に、*Oas1a* 遺伝子と相同性を持つ配列の一部 (*Oas1a* と予想されるアミノ酸レベルで約 60%の相同性を持つ) が含まれていることがわかった。そこで、OAS1 サブファミリー遺伝子がさらに2つ存在する可能性が考えられたので、まず RT-PCR 法により遺伝子発現を検討した。しかし、代表的な組織、およびこれまでの研究から 2-5OAS ファミリー遺伝子が全て誘導されている poly I:C で刺激した脾臓および肝臓においても、遺伝子発現は認められなかった(データ示さず)。このことから、HTGS データベース上で新たに見つかった2つの OAS1 サブファミリー様遺伝子は偽遺伝子であると思われる。次に、公開されているヒトゲノムの全塩基配列を検索することにより、マウス *Oas1d*~*Oas1g* に相当するヒトの OAS1 サブファミリー遺伝子の存在を検討した。しかし、ヒトゲノム中に OAS1 と有意な相同性を示す遺伝子を見出すことはできなかった。一方、HTGS データベース上に登録されていたラットゲノム 2-5OAS 領域のドラフトシーケンス (accession: AC098508) の相同性解析を行ったところ、マウス OAS1 サブファミリー遺伝子

に相当する独立した5つの遺伝子の一部配列を含んでいることがわかった（データ示さず）。実際、ラット OAS1 サブファミリー遺伝子は既に2つの遺伝子、“OAS1”（Z18877）と“OAS2”（AF068268）が GenBank に登録されており、複数存在することが確認されている。このことから、マウス *Oas1d*~*Oas1g* 遺伝子は齧歯類特有の遺伝子であると考えられる。新規のマウス OASL サブファミリー遺伝子である *Oas12* は、*Oas11* よりもヒト OASL とより相同性が高く、酵素活性がないという点でも一致している。このことから、*Oas12* が真のマウス OASL ホモログであり、*Oas11* はマウス特異的な遺伝子であると考えられる。霊長類（ヒト）と齧歯類（マウス、ラット）以外の脊椎動物の 2-5OAS 遺伝子としては、偶蹄類（ブタ）と鳥類（ニワトリ）の報告がある。ブタの 2-5OAS 遺伝子については一部の塩基配列のみの報告であるが、相同性から OAS1 型であることが推定されている(70)。しかし、詳細については一切不明である。一方、ニワトリについては宗川らの研究グループによって詳細に解析されており、ユビキチン様領域を C 末に持つ単一の OASL 型遺伝子しか持っていないことが示されている。ニワトリの 2-5OAS 基本構造部分のアミノ酸配列の相同性のみから計算した分子系統樹解析でも OASL ファミリーに属していた。さらに、*Oas11* はニワトリ OAS とヒト OASL・マウス *Oas12* との中間に位置している。この事実から、2-5OAS の祖先遺伝子は OASL 型である可能性が示唆される。また、マウス 2-5OAS ファミリー遺伝子に見られるような種特異的な遺伝子増幅は、IFN システムの中では他にも認められている(100)。IFN- β 遺伝子が典型的な例であり、霊長類や齧歯類では単一の遺伝子であるが、反芻獣では遺伝子増幅により、ウシですでにクローニングされている3つの IFN- β 遺伝子を含めて、複数存在していることが報告されている。このような IFN 関連遺伝子の動物種間の多様性は、IFN システムが生体のウイルス感染防御反応や恒常性の維持に重要な役割を担っていることに起因していると思われる。

2-5OAS ファミリー分子は、それぞれ独立した機能を有していることが推測される。ノザンハイブリダイゼーションによる mRNA の各種臓器における発現の検討からは、それぞれの 2-5OAS ファミリー遺伝子は異なる発現分布を示していた。代表的な 2-5OAS 遺伝子である *Oas1a* mRNA の発現は、生理的な状態において広範な臓器で認められるが、特に粘膜系の組織やリンパ系の組織で高いということが既に報告されていた。それに対して OAS1 サブファミリー遺伝子では、*Oas1d* mRNA はリンパ系のみ、それ以外は特に卵巣で強く発現して

いた。OASL サブファミリー遺伝子である *Oasl1*、*Oasl2* mRNA の発現分布はほぼ同じ傾向を示し、*Oasl1a* mRNA の発現分布と同じように広範な臓器で認められたが、*Oasl1* mRNA の発現は特に肺や胸腺で強い点が異なっていた。これは、*Oasl1* の発現は樹状細胞で強く発現しているとの報告があることから(124)、これらの組織では樹状細胞が多く存在していることを反映しているものと思われる。これら 2-5OAS ファミリー遺伝子は全て強力な IFN 誘導剤である poly I:C によって mRNA の発現が誘導されたが、OAS1 サブファミリー遺伝子はあまり誘導されなかった。これら OAS1 サブファミリー遺伝子の mRNA 発現分布と IFN に対する反応性の違いは、古典的な 2-5OAS の生物作用とは異なる機能を持っていることを示唆している。

分子構造については、*Oasl1d* を除いた全ての 2-5OAS ファミリー分子は、1 つ以上のよく保存された約 350 アミノ酸よりなる OAS 基本単位に多様に富んだ付加部位を持つ構造をしている。C57BL/6J よりクローニングした *Oasl1d* の OAS 基本単位はナンセンス変異により不完全であったが、最近 GenBank に登録された塩基配列データ (“Similar to oligoadenylate synthetase 1B”, accession: BC012877) は完全な OAS 基本単位を含む *Oasl1d* 遺伝子であり、マウス間の対立遺伝子多型であると考えられた。ユビキチン様領域に欠損が認められた *Oasl1/p54* についても、同様にマウス間の対立遺伝子多型であると考えている。齧歯類特有の OAS1 サブファミリーと *Oasl2* は、ATP 結合部位である P-loop モチーフ(105)と Mg^{2+} 結合部位である DAD モチーフ (D-box) (131) に変異を持っていた。これらのモチーフは 2-5OAS の酵素活性に必須とされており、これらの分子が 2-5OAS 活性を持たないことを示唆している。実際、これらの遺伝子を大腸菌内で発現させることにより得た組み換えタンパク質は、dsRNA 結合能は持つものの、2-5OAS 酵素活性を検出することができなかった。これらの結果は、*Oasl1a* を除いた OAS1 サブファミリー分子と *Oasl2* はウイルス感染防御機構として知られている「2-5A システム」とは異なる機能を持っていることを示唆している。しかし一方では、*Oasl1c*~*Oasl1g* は dsRNA 結合能を有しているだけでなく、酵素活性に必須とされる四量体形成に重要な CFK モチーフ(34)が保存されていることから、*Oasl1a* に dsRNA 依存的に結合しヘテロ四量体を形成することにより 2-5OAS 酵素活性を負に制御している可能性も考えられる。また、ATP 以外の GTP などを基質として用いる可能性も考えられ、今後の分子レベルでの解析の課題である。

最近、ヒト OASL が、yeast two-hybrid 法により甲状腺ホルモン受容体と相互作用する分子として分離された Trip14 と同一分子であることが報告された(72)。同様にヒト OAS1 もプロラクチン受容体と相互作用する分子として同定され、STAT5 (signal transducers and activators of transcription 5) の活性化には影響を与えないが、STAT1 の活性化を選択的に抑制すると報告されている(80)。これらの報告は、2-5OAS 分子がホルモンやサイトカイン受容体からのシグナル伝達経路で未知の機能を有していることを強く示唆している。

以上のように、2-5OAS 遺伝子の抗ウイルス作用としての「古典的 2-5A システム」とは異なる未知の機能と、さらには IFN の抗腫瘍作用のエフェクター分子としての機能を *in vivo* で証明するために KO マウスを作製している。これまでに、共同研究者の柴田によって *Oas1c* KO マウスが作成されており、現在表現型の解析中である。しかし、これら 2-5OAS ファミリー遺伝子は独立した機能を有している可能性はあるものの、共通の重複した機能も持つものと考えられ、単独の遺伝子 KO マウスでは機能が他の遺伝子によって補われてしまい表現型として現れない場合も予想される。そのため、約 220kb にわたる 2-5OAS 領域 (OAS1 サブファミリー、*Oas3*、*Oas2* の少なくとも 9 つの遺伝子) を欠失させた KO マウス (2-5OAS KO マウス) の作製も計画している。一方で、2-5OAS KO マウスでは、得られた表現型において最も重要な役割を担っている遺伝子を特定することはできないので、単独 KO マウスとの比較、または 2-5OAS ファミリー遺伝子 cDNA の遺伝子導入マウスとの交配による遺伝子の再構築なども必要に応じて行う予定である。

表3.5.1 マウス2-5OASファミリー遺伝子

	その他の呼称	アミノ酸数	高発現臓器	poly I:C	活性	ヒトとの相同性*	
Oas1a/1b	L3/L2	367	粘膜系組織、リンパ系組織	++	+	71% (82%)	OAS1
Oas1c	Oas15	362	卵巣、脳幹**	+	-	52% (69%)	
Oas1d	L1	251	リンパ系組織	+	-	57% (66%)	
Oas1e		369	卵巣	+	-	52% (67%)	
Oas1f		356	卵巣、小腸	+	-	52% (68%)	
Oas1g		361	卵巣、小腸	+	-	52% (67%)	
Oas2		742	リンパ系組織、子宮	++	+	61% (73%)	OAS2
Oas3		1138	粘膜系組織、リンパ系組織	++	+	66% (75%)	OAS3
Oas11	p54	508***	粘膜系組織、リンパ系組織	++	+	47% (62%)	OASL
Oas12		511	粘膜系組織、リンパ系組織	++	-	65% (77%)	

*; 一致率 (類似性)

**; Shibata *et al.*, *GENE* 271, 261-71(2001)

***; ユビキチン様領域が完全なもの

4 参考文献

1. Abe, K., M. Harada, K. Tamada, O. Ito, T. Li, and K. Nomoto. 1998. Early-appearing tumor-infiltrating natural killer cells play an important role in the nitric oxide production of tumor-associated macrophages through their interferon production. *Cancer Immunol. Immunother.* **45**:225-233.
2. Akiyama, K., K. Yokota, S. Kagawa, N. Shimbara, T. Tamura, H. Akioka, H. G. Nothwang, C. Noda, K. Tanaka, and A. Ichihara. 1994. cDNA cloning and interferony down-regulation of proteasomal subunits X and Y. *Science.* **265**:1231-1234.
3. Aulitzky, W. E., J. Lerche, A. Thews, I. Luttichau, N. Jacobi, M. Herold, W. Aulitzky, C. Peschel, M. Stockle, F. Steinbach, and a. I. et. 1994. Low-dose gamma-interferon therapy is ineffective in renal cell carcinoma patients with large tumour burden. *European Journal of Cancer.*
4. Barber, G. N., M. Wambach, S. Thompson, R. Jagus, and M. G. Katze. 1995. Mutants of the RNA-dependent protein kinase (PKR) lacking double-stranded RNA binding domain I can act as transdominant inhibitors and induce malignant transformation. *Molecular & Cellular Biology.* **15**:3138-46.
5. Benech, P., Y. Mory, M. Revel, and J. Chebath. 1985. Structure of two forms of the interferon-induced (2'-5') oligo A synthetase of human cells based on cDNAs and gene sequences. *Embo J.* **4**:2249-56.
6. Bennett, J. M., R. S. Blume, and S. M. Wolff. 1969. Characterization and significance of abnormal leukocyte granules in the beige mouse: a possible homologue for Chediak-Higashi Aleutian trait. *J Lab Clin Med.* **73**:235-43.
7. Bisbal, C., M. Silhol, H. Laubenthal, T. Kaluza, G. Carnac, L. Milligan, F. Le Roy, and T. Salehzada. 2000. The 2'-5' oligoadenylate/RNase L/RNase L inhibitor pathway regulates both MyoD mRNA stability and muscle cell differentiation. *Mol Cell Biol.* **20**:4959-69.
8. Bloom, M. B., D. Perry-Lalley, P. F. Robbins, Y. Li, M. el-Gamil, S. A. Rosenberg, and J. C. Yang. 1997. Identification of tyrosinase-related protein 2 as a tumor rejection antigen for the B16 melanoma. *J Exp Med.* **185**:453-9.
9. Bohm, W., S. Thoma, F. Leithauser, P. Moller, R. Schirmbeck, and J. Reimann. 1998. T cell-mediated, IFN- γ -facilitated rejection of murine B16 melanomas. *J. Immunol.* **161**:897-908.
10. Bonnem, E. M. 1991. alpha Interferon: the potential drug of adjuvant therapy: past achievements and future challenges. [Review] [54 refs]. *European Journal of Cancer.*
11. Brown, K., A. Buchmann, and A. Balmain. 1990. Carcinogen-induced mutations in the mouse c-Ha-ras gene provide evidence of multiple pathways for tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U*

S A. **87**:538-42.

12. **Brown, T. D., P. J. Goodman, T. Fleming, J. S. Macdonald, T. O'Rourke, S. A. Taylor, J. R. Neefe, and E. Gaynor.** 1991. Phase II trial of recombinant DNA gamma-interferon in advanced colorectal cancer: a Southwest Oncology Group study. *Journal of Immunotherapy*. **10**:379-82.
13. **Brunda, M. J., L. Luistro, R. R. Warriar, R. B. Wright, B. R. Hubbard, M. Murphy, S. F. Wolf, and M. K. Gately.** 1993. Antitumor and antimetastatic activity of interleukin 12 against murine tumors. *Journal of Experimental Medicine*. **178**:1223-30.
14. **Chebath, J., P. Benech, M. Revel, and M. Vigneron.** 1987. Constitutive expression of (2'-5') oligo A synthetase confers resistance to picornavirus infection. *Nature*. **330**:587-8.
15. **Chomczynski, P., and N. Sacchi.** 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*. **162**:156-9.
16. **Cleveland, J. L., and J. N. Ihle.** 1995. Contenders in FasL/TNF death signaling. *Cell*. **81**:479-82.
17. **Coccia, E. M., G. Romeo, A. Nissim, G. Marziali, R. Albertini, E. Affabris, A. Battistini, G. Fiorucci, R. Orsatti, G. B. Rossi, and et al.** 1990. A full-length murine 2-5A synthetase cDNA transfected in NIH-3T3 cells impairs EMCV but not VSV replication. *Virology*. **179**:228-33.
18. **Coughlin, C. M., K. E. Salhany, M. S. Gee, D. C. LaTemple, S. Kottenko, X. Ma, G. Gri, M. Wysocka, J. E. Kim, L. Liu, F. Liao, J. M. Farber, S. Pestka, G. Trinchieri, and W. M. Lee.** 1998. Tumor cell responses to IFN γ affect tumorigenicity and response to IL-12 therapy and antiangiogenesis. *Immunity*. **9**:25-34.
19. **Couturier, C., A. Brouillet, C. Couriaud, K. Koumanov, G. Berezat, and M. Andreani.** 1999. Interleukin 1beta induces type II-secreted phospholipase A(2) gene in vascular smooth muscle cells by a nuclear factor kappaB and peroxisome proliferator-activated receptor-mediated process. *J Biol Chem*. **274**:23085-93.
20. **Cressman, D. E., L. E. Greenbaum, R. A. DeAngelis, G. Ciliberto, E. E. Furth, V. Poli, and R. Taub.** 1996. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science*. **274**:1379-83.
21. **Cui, J., T. Shin, T. Kawano, H. Sato, E. Kondo, I. Toura, Y. Kaneko, H. Koseki, M. Kanno, and M. Taniguchi.** 1997. Requirement for Valpha14 NKT Cells in IL-12-Mediated Rejection of Tumors. *Science*. **278**:1623-6.
22. **Dale, T. C.** 1998. Signal transduction by the Wnt family of ligands. *Biochem J*. **329**:209-23.
23. **Dalton, D. K., M. S. Pitts, S. Keshav, I. S. Figari, A. Bradley, and T. A. Stewart.** 1993. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes [see comments].

Science. **259**:1739-42.

24. **Darnell, J. J., I. M. Kerr, and G. R. Stark.** 1994. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science*. **264**:1415-21.
25. **Deiss, L. P., E. Feinstein, H. Berissi, O. Cohen, and A. Kimchi.** 1995. Identification of a novel serine/threonine kinase and a novel 15-kD protein as potential mediators of the gamma interferon-induced cell death. *Genes & Development*. **9**:15-30.
26. **Diaz-Guerra, M., C. Rivas, and M. Esteban.** 1997. Inducible expression of the 2-5A synthetase/RNase L system results in inhibition of vaccinia virus replication. *Virology*. **227**:220-8.
27. **Dighe, A. S., E. Richards, L. J. Old, and R. D. Schreiber.** 1994. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN gamma receptors. *Immunity*. **1**:447-56.
28. **Dove, W. F., L. Clipson, K. A. Gould, C. Luongo, D. J. Marshall, A. R. Moser, M. A. Newton, and R. F. Jacoby.** 1997. Intestinal neoplasia in the ApcMin mouse: independence from the microbial and natural killer (beige locus) status. *Cancer Res*. **57**:812-4.
29. **Dudley, M. E., J. P. Sundberg, and D. C. Roopenian.** 1996. Frequency and histological appearance of adenomas in multiple intestinal neoplasia mice are unaffected by severe combined immunodeficiency (scid) mutation. *Int J Cancer*. **65**:249-53.
30. **Eberl, G., and H. R. MacDonald.** 2000. Selective induction of NK cell proliferation and cytotoxicity by activated NKT cells. *Eur. J. Immunol*. **30**:985-992.
31. **Fahmi, H., J. A. Di Battista, J. P. Pelletier, F. Mineau, P. Ranger, and J. Martel-Pelletier.** 2001. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators inhibit interleukin-1beta-induced nitric oxide and matrix metalloproteinase 13 production in human chondrocytes. *Arthritis Rheum*. **44**:595-607.
32. **Floyd-Smith, G., E. Slattery, and P. Lengyel.** 1981. Interferon action: RNA cleavage pattern of a (2'-5')oligoadenylate--dependent endonuclease. *Science*. **212**:1030-2.
33. **Fodde, R., W. Edelmann, K. Yang, C. van Leeuwen, C. Carlson, B. Renault, C. Breukel, E. Alt, M. Lipkin, P. M. Khan, and et al.** 1994. A targeted chain-termination mutation in the mouse Apc gene results in multiple intestinal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **91**:8969-73.
34. **Ghosh, A., S. N. Sarkar, W. Guo, S. Bandyopadhyay, and G. C. Sen.** 1997. Enzymatic activity of 2'-5'-oligoadenylate synthetase is impaired by specific mutations that affect oligomerization of the protein. *J Biol Chem*. **272**:33220-6.
35. **Ghosh, S. K., J. Kusari, S. K. Bandyopadhyay, H. Samanta, R. Kumar, and G. C. Sen.** 1991. Cloning, sequencing, and expression of two murine 2'-5'-oligoadenylate synthetases. *Structure-*

- function relationships. *J Biol Chem.* **266**:15293-9.
36. **Gidlund, M., A. Orn, H. Wigzell, A. Senik, and I. Gresser.** 1978. Enhanced NK cell activity in mice injected with interferon and interferon inducers. *Nature.* **273**:759-61.
 37. **Giovarelli, M., A. Santoni, C. Jemma, T. Musso, A. M. Giuffrida, G. Cavallo, S. Landolfo, and G. Forni.** 1988. Obligatory role of IFN- γ in induction of lymphokine-activated and T lymphocyte killer activity, but not in boosting of natural cytotoxicity. *J. Immunol.* **141**:2831-2836.
 38. **Gorelik, E., R. H. Wiltout, K. Okumura, S. Habu, and R. B. Herberman.** 1982. Role of NK cells in the control of metastatic spread and growth of tumor cells in mice. *International Journal of Cancer.* **30**:107-12.
 39. **Gray, P. W., and D. V. Goeddel.** 1983. Cloning and expression of murine immune interferon cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **80**:5842-6.
 40. **Gu, H., J. D. Marth, P. C. Orban, H. Mossmann, and K. Rajewsky.** 1994. Deletion of a DNA polymerase beta gene segment in T cells using cell type-specific gene targeting. *Science.* **265**:103-6.
 41. **Gu, H., Y. R. Zou, and K. Rajewsky.** 1993. Independent control of immunoglobulin switch recombination at individual switch regions evidenced through Cre-loxP-mediated gene targeting. *Cell.* **73**:1155-64.
 42. **Hannum, C. H., C. J. Wilcox, W. P. Arend, F. G. Joslin, D. J. Dripps, P. L. Heimdal, L. G. Armes, A. Sommer, S. P. Eisenberg, and R. C. Thompson.** 1990. Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor. *Nature.* **343**:336-40.
 43. **Hartmann, R., H. S. Olsen, S. Widder, R. Jorgensen, and J. Justesen.** 1998. p59OASL, a 2'-5' oligoadenylate synthetase like protein: a novel human gene related to the 2'-5' oligoadenylate synthetase family. *Nucleic Acids Res.* **26**:4121-8.
 44. **Hassel, B. A., A. Zhou, C. Sotomayor, A. Maran, and R. H. Silverman.** 1993. A dominant negative mutant of 2-5A-dependent RNase suppresses antiproliferative and antiviral effects of interferon. *Embo J.* **12**:3297-3304.
 45. **Hioki, K., N. Shivapurkar, H. Oshima, O. Alabaster, M. Oshima, and M. M. Taketo.** 1997. Suppression of intestinal polyp development by low-fat and high-fiber diet in Apc(delta716) knockout mice. *Carcinogenesis.* **18**:1863-5.
 46. **Horai, R., M. Asano, K. Sudo, H. Kanuka, M. Suzuki, M. Nishihara, M. Takahashi, and Y. Iwakura.** 1998. Production of mice deficient in genes for interleukin (IL)-1alpha, IL-1beta, IL-1alpha/beta, and IL-1 receptor antagonist shows that IL-1beta is crucial in turpentine-induced fever development and glucocorticoid secretion. *J Exp Med.* **187**:1463-75.

47. **Hovnanian, A., D. Rebouillat, E. R. Levy, M. G. Mattei, and A. G. Hovanessian.** 1999. The human 2',5'-oligoadenylate synthetase-like gene (OASL) encoding the interferon-induced 56-kDa protein maps to chromosome 12q24.2 in the proximity of the 2',5'-OAS locus. *Genomics*. **56**:362-3.
48. **Hovnanian, A., D. Rebouillat, M. G. Mattei, E. R. Levy, I. Marie, A. P. Monaco, and A. G. Hovanessian.** 1998. The human 2',5'-oligoadenylate synthetase locus is composed of three distinct genes clustered on chromosome 12q24.2 encoding the 100-, 69-, and 40-kDa forms. *Genomics*. **52**:267-77.
49. **Huang, S., W. Hendriks, A. Althage, S. Hemmi, H. Bluethmann, R. Kamijo, J. Vilcek, R. M. Zinkernagel, and M. Aguet.** 1993. Immune response in mice that lack the interferon-gamma receptor [see comments]. *Science*. **259**:1742-5.
50. **Ichii, Y., R. Fukunaga, S. Shiojiri, and Y. Sokawa.** 1986. Mouse 2-5A synthetase cDNA: nucleotide sequence and comparison to human 2-5A synthetase. *Nucleic Acids Res.* **14**:10117.
51. **Imakawa, K., R. V. Anthony, M. Kazemi, K. R. Marotti, H. G. Polites, and R. M. Roberts.** 1987. Interferon-like sequence of ovine trophoblast protein secreted by embryonic trophoblast. *Nature*. **330**:377-9.
52. **Inbal, B., O. Cohen, C. S. Polak, J. Kopolovic, E. Vadai, L. Eisenbach, and A. Kimchi.** 1997. DAP kinase links the control of apoptosis to metastasis. *Nature*. **390**:180-4.
53. **Isaacs, A., and J. Lindenmann.** 1987. Virus interference. I. The interferon. By A. Isaacs and J. Lindenmann. *J Interferon Res.* **7**:429-38.
54. **Iwakura, Y., S. Yonehara, and Y. Kawade.** 1978. Purification of mouse L cell interferon. Essentially pure preparations with associated cell growth inhibitory activity. *J Biol Chem.* **253**:5074-9.
55. **Jacoby, R. F., D. J. Marshall, M. A. Newton, K. Novakovic, K. Tutsch, C. E. Cole, R. A. Lubet, G. J. Kelloff, A. Verma, A. R. Moser, and W. F. Dove.** 1996. Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the Apc Min mouse model by the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam. *Cancer Res.* **56**:710-4.
56. **Jeffrey, A. M.** 1985. DNA modification by chemical carcinogens. *Pharmacol Ther.* **28**:237-72.
57. **Jiang, H., J. Lin, Z. Z. Su, M. Herlyn, R. S. Kerbel, B. E. Weissman, D. R. Welch, and P. B. Fisher.** 1995. The melanoma differentiation-associated gene mda-6, which encodes the cyclin-dependent kinase inhibitor p21, is differentially expressed during growth, differentiation and progression in human melanoma cells. *Oncogene*. **10**:1855-64.
58. **Justesen, J., R. Hartmann, and N. O. Kjeldgaard.** 2000. Gene structure and function of the 2'-5'-oligoadenylate synthetase family. *Cell Mol Life Sci.* **57**:1593-612.
59. **Kaplan, D. H., V. Shankaran, A. S. Dighe, E. Stockert, M. Aguet, L. J. Old, and R. D. Schreiber.** 1998. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in

- immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **95**:7556-61.
60. **Kerr, I. M., and R. E. Brown.** 1978. pppA2'p5'A2'p5'A: an inhibitor of protein synthesis synthesized with an enzyme fraction from interferon-treated cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **75**:256-60.
 61. **Kinzler, K. W., M. C. Nilbert, L. K. Su, B. Vogelstein, T. M. Bryan, D. B. Levy, K. J. Smith, A. C. Preisinger, P. Hedge, D. McKechnie, and et al.** 1991. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science*. **253**:661-5.
 62. **Kinzler, K. W., and B. Vogelstein.** 1996. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*. **87**:159-70.
 63. **Kissil, J. L., E. Feinstein, O. Cohen, P. A. Jones, Y. C. Tsai, M. A. Knowles, M. E. Eydmann, and A. Kimchi.** 1997. DAP-kinase loss of expression in various carcinoma and B-cell lymphoma cell lines: possible implications for role as tumor suppressor gene. *Oncogene*. **15**:403-7.
 64. **Koike, K., T. Nakahata, M. Takagi, T. Kobayashi, A. Ishiguro, K. Tsuji, K. Naganuma, A. Okano, Y. Akiyama, and T. Akabane.** 1988. Synergism of BSF-2/interleukin 6 and interleukin 3 on development of multipotential hemopoietic progenitors in serum-free culture. *J Exp Med*. **168**:879-90.
 65. **Kopf, M., H. Baumann, G. Freer, M. Freudenberg, M. Lamers, T. Kishimoto, R. Zinkernagel, H. Bluethmann, and G. Kohler.** 1994. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*. **368**:339-42.
 66. **Koromilas, A. E., S. Roy, G. N. Barber, M. G. Katze, and N. Sonenberg.** 1992. Malignant transformation by a mutant of the IFN-inducible dsRNA-dependent protein kinase. *Science*. **257**:1685-9.
 67. **Kuida, K., J. A. Lippke, G. Ku, M. W. Harding, D. J. Livingston, M. S. Su, and R. A. Flavell.** 1995. Altered cytokine export and apoptosis in mice deficient in interleukin-1 beta converting enzyme. *Science*. **267**:2000-3.
 68. **Kumar, R., D. Choubey, P. Lengyel, and G. C. Sen.** 1988. Studies on the role of the 2'-5'-oligoadenylate synthetase-RNase L pathway in beta interferon-mediated inhibition of encephalomyocarditis virus replication. *J Virol*. **62**:3175-81.
 69. **Kumar, R., L. Korutla, and K. Zhang.** 1994. Cell cycle-dependent modulation of alpha-interferon-inducible gene expression and activation of signaling components in Daudi cells. *J Biol Chem*. **269**:25437-41.
 70. **Kumar, S., C. Mitnik, G. Valente, and G. Floyd-Smith.** 2000. Expansion and molecular evolution of the interferon-induced 2'-5' oligoadenylate synthetase gene family. *Mol Biol Evol*. **17**:738-50.
 71. **Laskin, D. L., Rodriguez, del Valle, M, D. E. Heck, S. M. Hwang, S. T. Ohnishi, S. K. Durham, N. L. Goller, and J. D. Laskin.** 1995. Hepatic nitric oxide production following acute

- endotoxemia in rats is mediated by increased inducible nitric oxide synthase gene expression. *Hepatology*. **22**:223-34.
72. **Lee, J. W., H. S. Choi, J. Gyuris, R. Brent, and D. D. Moore.** 1995. Two classes of proteins dependent on either the presence or absence of thyroid hormone for interaction with the thyroid hormone receptor. *Mol Endocrinol*. **9**:243-54.
73. **Lefebvre, A. M., I. Chen, P. Desreumaux, J. Najib, J. C. Fruchart, K. Geboes, M. Briggs, R. Heyman, and J. Auwerx.** 1998. Activation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma promotes the development of colon tumors in C57BL/6J-APCMin/+ mice. *Nat Med*. **4**:1053-7.
74. **Lefevre, F., and V. Boulay.** 1993. A novel and atypical type one interferon gene expressed by trophoblast during early pregnancy. *J Biol Chem*. **268**:19760-8.
75. **Maekawa, R., T. Kitagawa, K. Hojo, T. Wada, and K. Sato.** 1988. Distinct antitumor mechanisms of recombinant murine interferon-gamma against two murine tumor models. *Journal of Interferon Research*. **8**:227-39.
76. **Mangelsdorf, D. J., C. Thummel, M. Beato, P. Herrlich, G. Schutz, K. Umesono, B. Blumberg, P. Kastner, M. Mark, P. Chambon, and et al.** 1995. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell*. **83**:835-9.
77. **Marie, I., J. Blanco, D. Rebouillat, and A. G. Hovanessian.** 1997. 69-kDa and 100-kDa isoforms of interferon-induced (2'-5')oligoadenylate synthetase exhibit differential catalytic parameters. *Eur J Biochem*. **248**:558-66.
78. **Marie, I., and A. G. Hovanessian.** 1992. The 69-kDa 2-5A synthetase is composed of two homologous and adjacent functional domains. *J Biol Chem*. **267**:9933-9.
79. **Marie, I., J. Svab, N. Robert, J. Galabru, and A. G. Hovanessian.** 1990. Differential expression and distinct structure of 69- and 100-kDa forms of 2-5A synthetase in human cells treated with interferon. *J Biol Chem*. **265**:18601-7.
80. **McAveney, K. M., M. L. Book, P. Ling, J. Chebath, and L. Yu-Lee.** 2000. Association of 2',5'-oligoadenylate synthetase with the prolactin (PRL) receptor: alteration in PRL-inducible stat1 (signal transducer and activator of transcription 1) signaling to the IRF-1 (interferon-regulatory factor 1) promoter. *Mol Endocrinol*. **14**:295-306.
81. **Miyoshi, Y., H. Nagase, H. Ando, A. Horii, S. Ichii, S. Nakatsuru, T. Aoki, Y. Miki, T. Mori, and Y. Nakamura.** 1992. Somatic mutations of the APC gene in colorectal tumors: mutation cluster region in the APC gene. *Hum Mol Genet*. **1**:229-33.
82. **Moore, R. J., D. M. Owens, G. Stamp, C. Arnott, F. Burke, N. East, H. Holdsworth, L. Turner, B. Rollins, M. Pasparakis, G. Kollias, and F. Balkwill.** 1999. Mice deficient in tumor necrosis

- factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med.* **5**:828-31.
83. Moser, A. R., H. C. Pitot, and W. F. Dove. 1990. A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse. *Science.* **247**:322-4.
84. Mosmann, T. R., H. Cherwinski, M. W. Bond, M. A. Giedlin, and R. L. Coffman. 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *Journal of Immunology.* **136**:2348-57.
85. Nishisho, I., Y. Nakamura, Y. Miyoshi, Y. Miki, H. Ando, A. Horii, K. Koyama, J. Utsunomiya, S. Baba, and P. Hedge. 1991. Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients. *Science.* **253**:665-9.
86. Onozaki, K., H. Urawa, T. Tamatani, Y. Iwamura, T. Hashimoto, T. Baba, H. Suzuki, M. Yamada, S. Yamamoto, J. J. Oppenheim, and et al. 1988. Synergistic interactions of interleukin 1, interferon-beta, and tumor necrosis factor in terminally differentiating a mouse myeloid leukemic cell line (M1). Evidence that interferon-beta is an autocrine differentiating factor. *J Immunol.* **140**:112-9.
87. Oshima, M., J. E. Dinchuk, S. L. Kargman, H. Oshima, B. Hancock, E. Kwong, J. M. Trzaskos, J. F. Evans, and M. M. Taketo. 1996. Suppression of intestinal polyposis in *Apc* delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell.* **87**:803-9.
88. Oshima, M., H. Oshima, K. Kitagawa, M. Kobayashi, C. Itakura, and M. Taketo. 1995. Loss of *Apc* heterozygosity and abnormal tissue building in nascent intestinal polyps in mice carrying a truncated *Apc* gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **92**:4482-6.
89. Oshima, M., M. Takahashi, H. Oshima, M. Tsutsumi, K. Yazawa, T. Sugimura, S. Nishimura, K. Wakabayashi, and M. M. Taketo. 1995. Effects of docosahexaenoic acid (DHA) on intestinal polyp development in *Apc* delta 716 knockout mice. *Carcinogenesis.* **16**:2605-7.
90. Ossina, N. K., A. Cannas, V. C. Powers, P. A. Fitzpatrick, J. D. Knight, J. R. Gilbert, E. M. Shekhtman, L. D. Tomei, S. R. Umansky, and M. C. Kiefer. 1997. Interferon-gamma modulates a p53-independent apoptotic pathway and apoptosis-related gene expression. *Journal of Biological Chemistry.* **272**:16351-7.
91. Ozaki, Y., M. P. Edelstein, and D. S. Duch. 1988. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase: a mechanism of the antitumor activity of interferon gamma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* **85**:1242-6.
92. Pace, J. L., S. W. Russell, B. A. Torres, H. M. Johnson, and P. W. Gray. 1983. Recombinant mouse γ interferon induces the priming step in macrophage activation for tumor cell killing. *J. Immunol.* **130**:2011-2013.
93. Pestka, S., J. A. Langer, K. C. Zoon, and C. E. Samuel. 1987. Interferons and their actions.

Annu Rev Biochem. **56**:727-77.

94. **Petryshyn, R., J. J. Chen, and I. M. London.** 1988. Detection of activated double-stranded RNA-dependent protein kinase in 3T3-F442A cells [published erratum appears in Proc Natl Acad Sci U S A 1988 Jun;85(12):4279]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **85**:1427-31.
95. **Powell, S. M., N. Zilz, Y. Beazer-Barclay, T. M. Bryan, S. R. Hamilton, S. N. Thibodeau, B. Vogelstein, and K. W. Kinzler.** 1992. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. Nature. **359**:235-7.
96. **Rebouillat, D., and A. G. Hovanessian.** 1999. The human 2',5'-oligoadenylate synthetase family: interferon-induced proteins with unique enzymatic properties. J Interferon Cytokine Res. **19**:295-308.
97. **Rebouillat, D., I. Marie, and A. G. Hovanessian.** 1998. Molecular cloning and characterization of two related and interferon-induced 56-kDa and 30-kDa proteins highly similar to 2'-5' oligoadenylate synthetase. Eur J Biochem. **257**:319-30.
98. **Rice, A. P., R. Duncan, J. W. Hershey, and I. M. Kerr.** 1985. Double-stranded RNA-dependent protein kinase and 2-5A system are both activated in interferon-treated, encephalomyocarditis virus-infected HeLa cells. J Virol. **54**:894-8.
99. **Richtsmeier, W. J., W. M. Koch, W. P. McGuire, M. E. Poole, and E. H. Chang.** 1990. Phase I-II study of advanced head and neck squamous cell carcinoma patients treated with recombinant human interferon gamma. Archives of Otolaryngology Head & Neck Surgery. **116**:1271-7.
100. **Roberts, R. M., L. Liu, Q. Guo, D. Leaman, and J. Bixby.** 1998. The evolution of the type I interferons. J Interferon Cytokine Res. **18**:805-16.
101. **Rutherford, M. N., A. Kumar, A. Nissim, J. Chebath, and B. R. Williams.** 1991. The murine 2-5A synthetase locus: three distinct transcripts from two linked genes. Nucleic Acids Res. **19**:1917-24.
102. **Ryffel, B., and M. J. Mihatsch.** 1993. TNF receptor distribution in human tissues. Int Rev Exp Pathol. **34 Pt B**:149-56.
103. **Saez, E., P. Tontonoz, M. C. Nelson, J. G. Alvarez, U. T. Ming, S. M. Baird, V. A. Thomazy, and R. M. Evans.** 1998. Activators of the nuclear receptor PPARgamma enhance colon polyp formation. Nat Med. **4**:1058-61.
104. **Salzberg, S., T. Hyman, H. Turm, Y. Kinar, Y. Schwartz, U. Nir, F. Lejbkowitz, and E. Huberman.** 1997. Ectopic expression of 2-5A synthetase in myeloid cells induces growth arrest and facilitates the appearance of a myeloid differentiation marker. Cancer Res. **57**:2732-40.

105. **Saraste, M., P. R. Sibbald, and A. Wittinghofer.** 1990. The P-loop--a common motif in ATP- and GTP-binding proteins. *Trends Biochem Sci.* **15**:430-4.
106. **Seidensticker, M. J., and J. Behrens.** 2000. Biochemical interactions in the wnt pathway. *Biochim Biophys Acta.* **1495**:168-82.
107. **Sen, G. C., and P. Lengyel.** 1992. The interferon system. A bird's eye view of its biochemistry. *J Biol Chem.* **267**:5017-20.
108. **Shankaran, V., H. Ikeda, A. T. Bruce, J. M. White, P. E. Swanson, L. J. Old, and R. D. Schreiber.** 2001. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature.* **410**:1107-11.
109. **Shibata, H., K. Toyama, H. Shioya, M. Ito, M. Hirota, S. Hasegawa, H. Matsumoto, H. Takano, T. Akiyama, K. Toyoshima, R. Kanamaru, Y. Kanegae, I. Saito, Y. Nakamura, K. Shiba, and T. Noda.** 1997. Rapid colorectal adenoma formation initiated by conditional targeting of the Apc gene. *Science.* **278**:120-3.
110. **Shibata, S., S. Kakuta, K. Hamada, Y. Sokawa, and Y. Iwakura.** 2001. Cloning of a novel 2',5'-oligoadenylate synthetase-like molecule, Oasl5 in mice. *Gene.* **271**:261-71.
111. **Sims, J. E., M. A. Gayle, J. L. Slack, M. R. Alderson, T. A. Bird, J. G. Giri, F. Colotta, F. Re, A. Mantovani, K. Shanebeck, and et al.** 1993. Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90**:6155-9.
112. **Sokawa, Y.** 1992. [2',5'-A synthetase--gene, enzyme, function]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* **37**:2823-31.
113. **Sonoshita, M., K. Takaku, N. Sasaki, Y. Sugimoto, F. Ushikubi, S. Narumiya, M. Oshima, and M. M. Taketo.** 2001. Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in Apc(Delta 716) knockout mice. *Nat Med.* **7**:1048-51.
114. **Staeheli, P., O. Haller, W. Boll, J. Lindenmann, and C. Weissmann.** 1986. Mx protein: constitutive expression in 3T3 cells transformed with cloned Mx cDNA confers selective resistance to influenza virus. *Cell.* **44**:147-58.
115. **Steimle, V., C. A. Siegrist, A. Mottet, B. Lisowska-Groszpiere, and B. Mach.** 1994. Regulation of MHC class II expression by interferon-gamma mediated by the transactivator gene CIITA. *Science.* **265**:106-109.
116. **Su, L. K., K. W. Kinzler, B. Vogelstein, A. C. Preisinger, A. R. Moser, C. Luongo, K. A. Gould, and W. F. Dove.** 1992. Multiple intestinal neoplasia caused by a mutation in the murine homolog of the APC gene. *Science.* **256**:668-70.
117. **Suematsu, S., T. Matsusaka, T. Matsuda, S. Ohno, J. Miyazaki, K. Yamamura, T. Hirano,**

- and **T. Kishimoto**. 1992. Generation of plasmacytomas with the chromosomal translocation t(12;15) in interleukin 6 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **89**:232-5.
118. **Suganuma, M., S. Okabe, M. W. Marino, A. Sakai, E. Sueoka, and H. Fujiki**. 1999. Essential role of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in tumor promotion as revealed by TNF-alpha-deficient mice. *Cancer Res*. **59**:4516-8.
119. **Tagawa, Y., K. Sekikawa, and Y. Iwakura**. 1997. Suppression of concanavalin A-induced hepatitis in IFN-gamma(-/-) mice, but not in TNF-alpha(-/-) mice: role for IFN-gamma in activating apoptosis of hepatocytes. *Journal of Immunology*. **159**:1418-28.
120. **Takata, Y., Y. Kitami, T. Okura, and K. Hiwada**. 2001. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation inhibits interleukin-1beta -mediated platelet-derived growth factor-alpha receptor gene expression via CCAAT/enhancer-binding protein-delta in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. **276**:12893-7.
121. **Taniguchi, K., K. Karre, and G. Klein**. 1985. Lung colonization and metastasis by disseminated B16 melanoma cells: H-2 associated control at the level of the host and the tumor cell. *International Journal of Cancer*. **36**:503-10.
122. **Taniguchi, T., M. Takata, A. Ikeda, E. Momotani, and K. Sekikawa**. 1997. Failure of germinal center formation and impairment of response to endotoxin in tumor necrosis factor alpha-deficient mice. *Lab Invest*. **77**:647-58.
123. **Tannenbaum, C. S., R. Tubbs, D. Armstrong, J. H. Finke, R. M. Bukowski, and T. A. Hamilton**. 1998. The CXC chemokines IP-10 and Mig are necessary for IL-12-mediated regression of the mouse RENCA tumor. *J. Immunol*. **161**:927-932.
124. **Tiefenthaler, M., R. Marksteiner, S. Neyer, F. Koch, S. Hofer, G. Schuler, M. Nussenzweig, R. Schneider, and C. Heufler**. 1999. M1204, a novel 2',5' oligoadenylate synthetase with a ubiquitin-like extension, is induced during maturation of murine dendritic cells. *J Immunol*. **163**:760-5.
125. **Tontonoz, P., E. Hu, and B. M. Spiegelman**. 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*. **79**:1147-56.
126. **van den Broek, M. E., D. Kagi, F. Ossendorp, R. Toes, S. Vamvakas, W. K. Lutz, C. J. Melief, R. M. Zinkernagel, and H. Hengartner**. 1996. Decreased tumor surveillance in perforin-deficient mice. *J Exp Med*. **184**:1781-90.
127. **Warzocha, K., J. Bienvenu, B. Coiffier, and G. Salles**. 1995. Mechanisms of action of the tumor necrosis factor and lymphotoxin ligand-receptor system. *Eur Cytokine Netw*. **6**:83-96.
128. **Weigent, D. A., M. P. Langford, W. J. Fleischmann, and G. J. Stanton**. 1983. Potentiation of lymphocyte natural killing by mixtures of alpha or beta interferon with recombinant gamma interferon.

- Infection & Immunity. **40**:35-38.
129. **Weissmann, C., and H. Weber.** 1986. The interferon genes. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* **33**:251-300.
130. **Wolf, S. E., M. A. Debroy, H. Ikeda, M. Jeschke, S. Matin, S. Rajaraman, T. C. Ko, E. W. Englander, J. G. Norman, and J. C. Thompson.** 2000. Increased small bowel epithelial turnover in interleukin-1 receptor knockout mice. *Ann Surg.* **232**:42-5.
131. **Yamamoto, Y., D. Sono, and Y. Sokawa.** 2000. Effects of specific mutations in active site motifs of 2',5'-oligoadenylate synthetase on enzymatic activity. *J Interferon Cytokine Res.* **20**:337-44.
132. **Yim, J. H., S. J. Wu, J. K. Lowney, T. L. Vander Velde, and G. M. Doherty.** 1999. Enhancing in vivo tumorigenicity of B16 melanoma by overexpressing interferon regulatory factor-2: resistance to endogenous IFN- γ . *J. Interferon Cytokine Res.* **19**:723-729.
133. **Yonehara, S., A. Ishii, and M. Yonehara.** 1989. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor. *Journal of Experimental Medicine.* **169**:1747-56.
134. **Yoshizaki, K., N. Nishimoto, K. Matsumoto, H. Tagoh, T. Taga, Y. Deguchi, T. Kuritani, T. Hirano, K. Hashimoto, N. Okada, and et al.** 1990. Interleukin 6 and expression of its receptor on epidermal keratinocytes. *Cytokine.* **2**:381-7.
135. **Yu, F., and G. Floyd-Smith.** 1997. Protein kinase C is required for induction of 2',5'-oligoadenylate synthetases. *Exp Cell Res.* **234**:240-8.
136. **Zhou, A., B. A. Hassel, and R. H. Silverman.** 1993. Expression cloning of 2-5A-dependent RNAase: a uniquely regulated mediator of interferon action. *Cell.* **72**:753-65.
137. **Zhou, A., J. Paranjape, T. L. Brown, H. Nie, S. Naik, B. Dong, A. Chang, B. Trapp, R. Fairchild, C. Colmenares, and R. H. Silverman.** 1997. Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2',5'-oligoadenylate-dependent RNase L. *Embo J.* **16**:6355-63.

5 略語一覧

- 2-5OAS 2',5'-oligoadenylate synthetase (2',5'-オリゴアデニル酸合成酵素)
- 2-5A 2',5'-oligoadenylate, pppA(2'p5'A)_n (1 ≤ n < 30) (2',5'-オリゴアデニル酸)
- ACTH adrenocorticotrophic hormone (副腎皮質刺激ホルモン)
- AGPC acid guanidine thiocyanate/phenol chloroform
- APC antigen presenting cell (抗原提示細胞)
- Apc^{Min}* adenomatous polyposis coli / multiple intestinal neoplasia
- BAC bacterial artificial chromosome
- BLAST Basic Local Alignment Search Tool
- CRF corticotropin-releasing factor (コルチコトロピン放出因子)
- DMBA 7,12-dimethylbenzanthrene
- dsRNA double-stranded RNA (二本鎖 RNA)
- Dvl Dishevelled
- eIF2 eukaryotic initiation factor 2 (タンパク質合成開始因子 2)
- EMCV encephalo-myocarditis virus (脳心筋炎ウイルス)
- EP2 prostaglandin E₂ receptor type II
- ES 細胞 embryonic stem cell (胚性幹細胞)
- EST expression sequence tag
- FAP familial adenomatous polyposis (家族性大腸ポリープ症)
- FBS fetal bovine serum (ウシ胎児血清)
- GM-CSF granulocyte macrophage-colony stimulating factor
- GSK3 β glycogen synthase kinase 3 β
- GSP gene specific primer
- His-tag histidine tag
- HRP horseradish peroxidase
- IDO indoleamine 2,3-dioxygenase
- IFN interferon (インターフェロン)
- IL interleukin (インターロイキン)
- IL-1Ra IL-1 receptor antagonist
- IL-1RI IL-1 receptor type I
- IL-1RAcP IL-1 receptor accessory protein
- iNOS inducible nitric oxide synthase (誘導型一酸化窒素合成酵素)
- IPTG isopropyl β-D-thiogalactoside

IRF interferon regulatory factor
KO マウス knock-out mice (遺伝子欠損マウス)
LOH loss of heterozygosity (ヘテロ接合性の消失)
LT lymphotoxin (リンホトキシン)
MCA methylchoranthrene (メチルコラントレン)
MHC major histocompatibility complex (主要組織適合抗原)
neo neomycin resistant gene (ネオマイシン耐性遺伝子)
NJ neighbour-joining
NK natural killer
OASL oligoadenylate synthetase-like
ORF open reading frame
PBS phosphate-buffered saline
PG prostaglandin
PKR dsRNA dependent protein kinase (二本鎖 RNA 依存性蛋白リン酸化酵素)
poly I:C polyinosinic-polycytidylic acid
PPAR peroxisome proliferator-activated receptor
RACE rapid amplification of cDNA ends
RAG1 recombination-activating gene-1
RAG2 recombination-activating gene-2
RNase L ribonuclease L
SCID severe combined immunodeficiency disease
SDS-PAGE sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
SPF specific pathogen-free
sPLA₂ secreted phospholipase A₂
STAT signal transducers and activators of transcription
Tcf/Lef T-cell factor/lymphoid enhancer binding protein
TdT terminal deoxytransferase
TNF tumor necrosis factor (腫瘍壊死因子)
TPA 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate
VEGF vascular endothelial growth factor
wt wild-type (野生型)

6 謝辞

本研究を行うにあたり、温かいご指導を賜りました医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター細胞機能研究分野・教授・岩倉洋一郎博士に感謝いたします。実験にあたり直接のご指導を賜りました現・信州大学医学部・講師・田川陽一博士、現・ハーバード大学医学部・柴田進和博士に感謝いたします。共同研究者であるヤクルト中央研究所免疫研究部・南野昌信博士に感謝いたします。実験に協力してくださった西城忍さん、マウスの維持管理をしてくださった須藤カツ子博士に感謝いたします。

宝来玲子博士、保田尚孝博士、千田大博士、小谷素子博士、崔秉日博士、中江進さん、石井聡さん、松木大造さん、中嶋明子さん、鍵和田京子さん、小宮山寛さん、南部あやさん、藤門範行さん、角木基也さん、南田敦子さんをはじめとするヒト疾患モデル研究センター細胞機能研究分野のみなさん、および動物センターのみなさまに感謝いたします。

ヤクルト中央研究所免疫研究部・島田進一郎博士に感謝いたします。

最後に、本研究のために命を失った数多くのマウスたちに哀悼の意を捧げます。