

様 式 C-7-1

平成30年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	河合 太郎		

1. 研究種目名

基盤研究(B)(一般)

2. 課題番号

17H04066

3. 研究課題名

核酸受容体を介した自然免疫応答惹起機構と炎症性疾患発症機序の解明

4. 研究期間

平成29年度～令和元年度

5. 領域番号・区分

—

6. 研究実績の概要

ウイルスに対する自然免疫応答の分子機構を中心に解析を行った。RNA結合タンパク質Hu Antigen R (HuR; 別名ELAVL1)を欠損したマクロファージ細胞株を用いて解析を行ったところ、ウイルスRNA認識に関与するToll-like receptor 3 (TLR3)を介するサイトカイン産生が減弱しており、転写因子IRF3の活性化も低下していた。さらに詳細に解析を行ったところ、HuR欠損細胞ではV型ATPaseの構成因子の一つATP6VOD2の発現が顕著に低下しており、細胞内pHを測定したところ酸性化が阻害されていた。TLR3はエンドソームに局在しており酸性条件下で切断修飾を受けることで活性化型となるが、HuRの欠損によりこの修飾が阻害されていることが予想された。そこで、ATP6VOD2欠損細胞を樹立し解析を行ったところ、TLR3に対する応答が低下していた。HuRはmRNA結合タンパク質であり様々なmRNAの3'UTRに結合し安定化することが知られている。そのため、HuRとATP6VOD2 mRNAの結合をRIPアッセイで解析したところ会合を認めた。また、HuRの強制発現によりATP6VOD2 mRNAが安定化することも見出した。さらに、HuR欠損細胞にATP6VOD2を発現させると、TLR3に対する応答が回復した。これらのことからTLR3を介した自然免疫応答にはHuRによる標的mRNAの安定化が関与していることが明らかとなった。一方、イノシトール脂質脱リン酸化酵素MTMR3とMTMR4がDNAに対する自然免疫応答を負に制御することを見出した。MTMR3とMTMR4両因子の欠損細胞ではDNA認識経路において中心的な役割を果たすアダプター分子の細胞内動態に変化が生じており、これによりDNAに対する応答が増加していることを見出した。

7. キーワード

自然免疫 ウイルス感染 サイトカイン シグナル伝達

8. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由
TLR3を介する自然免疫応答におけるHuRの役割について、HuRが安定化を制御する標的因子としてATP6VOD2を同定し解析を行った。現在、論文作成中である。また、MTMR3とMTMR4が協調的にSTINGの細胞内動態を制御することで、DNAに対する自然免疫応答を負に制御していることを見出し、論文発表を行った。さらに、細胞内RNAセンサーであるRIG-Iを介する抗ウイルス自然免疫応答を解析する中で、TMEM41aがRIG-I下流シグナル経路活性化を負に制御していることを示唆するデータを得ており、現在解析を進めている。このように、ウイルス核酸に対する自然免疫応答を制御する細胞内因子の同定に成功し、それぞれの特異的な機能についていくつか明らかにすることができた。また、新たな取り組みとして、CRISPR/Cas9によりゲノム編集技術を用いて自然免疫制御に関連すると考えられる細胞内因子のスクリーニングを行い、TLRを介する炎症応答制御に関連すると示唆される新規因子を複数同定することができた。これらのことから、本研究は概ね順調に進展していると言える。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

炎症や感染等で発現が上昇するTMEMファミリーメンバーをデータベース上から既に100種類程度抽出しており、それらに対する発現ベクターを構築する。レポーターアッセイを通して、これらからインターフェロン遺伝子の発現を上昇あるいは抑制する候補因子の絞り込みを行う。現在、候補の一つとしてTMEM41aがRIG-Iを介するシグナルを抑制することを示すデータを得ており、今後ノックアウトマウスの作成も視野に個体レベルでの解析も行っていく。また、HuRによる自然免疫応答制御に関与する新たな標的因子の同定を目指し、HuR欠損細胞で発現が低下している因子を中心に解析を深める。また、CRISPR/Cas9スクリーニングで得られた新規因子については、細胞内局在の解析、結合因子のスクリーニングやノックアウトマウスの作成を通じてそれらの自然免疫応答における機能を明らかにしていく。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著論文 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Putri DDP, Kawasaki T, Murase M, Sueyoshi T, Deguchi T, Ori D, Suetsugu S, Kawai T.	4. 巻 -
2. 論文標題 PtdIns3P phosphatases MTMR3 and MTMR4 negatively regulate innate immune responses to DNA through modulating STING trafficking.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biol Chem.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.RA118.005731.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Sok SPM, Ori D, Nagoor NH, Kawai T.	4. 巻 38
2. 論文標題 Sensing Self and Non-Self DNA by Innate Immune Receptors and Their Signaling Pathways.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Crit Rev Immunol.	6. 最初と最後の頁 279-301
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1615/CritRevImmunol.2018026540.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawasaki T, Kawai T.	4. 巻 344
2. 論文標題 Discrimination Between Self and Non-Self-Nucleic Acids by the Innate Immune System.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Rev Cell Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 1-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.ircmb.2018.08.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Sueyoshi T, Kawasaki T, Kitai Y, Ori D, Akira S, Kawai T.	4. 巻 200
2. 論文標題 Hu Antigen R Regulates Antiviral Innate Immune Responses through the Stabilization of mRNA for Polo-like Kinase 2.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 3814-3824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1701282.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 Murase M, Kawasaki T, Hakozaiki R, Sueyoshi T, Putri DDP, Kitai Y, Sato S, Ikawa M, Kawai T.	4. 巻 200
2. 論文標題 Intravesicular Acidification Regulates Lipopolysaccharide Inflammation and Tolerance through TLR4 Trafficking.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 2798-2808
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1701390.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 2件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河合太郎
2. 発表標題 ウイルスや自己の核酸に対する自然免疫応答について
3. 学会等名 日本ウイルス学会北海道支部第52回夏季シンポジウム（上砂川岳温泉パンケの湯・北海道空知郡上砂川町）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河合太郎
2. 発表標題 自然免疫受容体やそれらのシグナル伝達分子を標的とした疾患制御の可能性について
3. 学会等名 第1回 Trans Chromosomics (TC) シンポジウム（鳥取大学医学部・鳥取県米子市）（招待講演）
4. 発表年 2018年

2 版

1. 発表者名 Mohd Izwan Zainol, Takumi Kawasaki, Taro Kawai
2. 発表標題 Human antigen R regulates innate immune response via mRNA stability
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術総会（福岡国際会議場・福岡）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takumi Kawasaki, Dyaningtyas Dewi Pamungkas Putri, Taro Kawai
2. 発表標題 Regulatory role of MTMR3/4 in innate immune signaling
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術総会（福岡国際会議場・福岡）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sophia Ping Meow Sok, Daisuke Ori, Noor Hasima Nagoor, Taro Kawai
2. 発表標題 Inhibition of NLRP3 in ammasome-mediated IL-1 release by 1'-acetoxychavicol acetate (ACA), a ginger-derived compound
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術総会（福岡国際会議場・福岡）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mizuka nagayama, Takumi Kawasaki, Taro Kawai
2. 発表標題 Molecular mechanism of IL-33 production during allergic inflammation
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術総会（福岡国際会議場・福岡）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Monwan, W., Kawasaki, T. Kawai T.
2. 発表標題 Identification of Nucleoporin (Nup) genes that mediate antiviral innate immune responses.
3. 学会等名 The 6th International Conference on Biochemistry and Molecular Biology "Networking in molecular biosciences towards creativity and innovation" (Rayong Resort・Rayong, Thailand)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Haruna Okude, Daisuke Ori, Takumi Kawasaki, Motoya Murase, Ken J Ishii, Taro Kawai
2. 発表標題 Elucidation of cell death pathway induced by imiquimod (R837)
3. 学会等名 EMBO Workshop "The inflammasomes" (Max-Planck-Institute of Biochemistry・Martinsried, Germany)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sophia Ping Meow Sok, Daisuke Ori, Noor Hasima Nagoor, Taro Kawai
2. 発表標題 Tropical ginger compound, 1'-acetoxychavicol acetate (ACA), inhibits NLRP3 inflammasome activation
3. 学会等名 EMBO Workshop "The inflammasomes" (Max-Planck-Institute of Biochemistry・Martinsried, Germany)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miyu Nakagawa, Taro Kawai
2. 発表標題 TMEM41a negatively regulates antiviral immune responses
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜・横浜市)
4. 発表年 2018年

2 版

1. 発表者名 Mizuka Nagayama, Takumi Kawasaki, Taro Kawai
2. 発表標題 Molecular mechanism of IL-33 production during allergic inflammation
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（パシフィコ横浜・横浜市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miyu Nakagawa, Taro Kawai
2. 発表標題 Negative regulation of RIG-I mediated antiviral innate immune responses by TMEM41a
3. 学会等名 The 7th Global Network Forum Infection and Immunity（千葉大学医学部附属病院・千葉市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mizuka Nagayama, Takumi Kawasaki, Taro Kawai
2. 発表標題 Molecular mechanism of IL-33 production during allergic inflammation
3. 学会等名 The 7th Global Network Forum Infection and Immunity（千葉大学医学部附属病院・千葉市）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
マレーシア	マラヤ大学	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—

14. 備考

—