

様 式 Z - 7

平成 2 6 年度科学研究費助成事業 実績報告書 (研究実績報告書)

1. 機関番号

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 4 | 6 | 0 | 3 |
|---|---|---|---|---|

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 基盤研究(B) 4. 研究期間 平成 2 6 年度 ~ 平成 2 8 年度
5. 課題番号

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 6 | 2 | 9 | 3 | 1 | 0 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
6. 研究課題名 RNAセンサーを起点とした抗ウイルス自然免疫応答制御メカニズムの解析

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|-----------------|------------------|-------------|-----|
| 5 0 4 5 6 9 3 5 | カワイ タロウ 河合 太郎 | バイオサイエンス研究科 | 准教授 |

8. 研究分担者

| 研究者番号 | 研究分担者名 | 所属研究機関名・部局名 | 職名 |
|-------|--------|-------------|----|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

9. 研究実績の概要

ウイルスに対する自然免疫応答におけるRBIF-1の解析を行った。RBIF-1 (Mex3c) はRNA結合に関与するKHドメインとユビキチン化に関わるRINGドメインを持つ分子であり、その過剰発現によりインターフェロンベータ遺伝子プロモーターを活性化することから、ウイルスに対する自然免疫応答を制御する可能性が示唆された。その為、ウイルスRNA認識センサーであるRIG-IやMDA5の制御に関与することが考えられた。その結果、Mex3cがRIG-Iと結合すること、両者がストレス顆粒に局在することを見いだした。さらに、Mex3cがRIG-Iの活性化に重要なリジン残基のK63型ユビキチン化修飾を施すことを見いだした。Mex3c欠損マウスを樹立し、解析を行ったところ、Mex3欠損細胞では、RIG-Iで認識されるウイルスに対するサイトカイン産生が現弱しており、ウイルス感染に対して易感染性を示すことを見いだした。これらのことから、Mex3cがRIG-I経路の活性化に必須の分子であることが明らかとなった。また、Mex3cと相同性を示す分子 (Mex3a, b) や他のRNA結合分子の自然免疫制御における役割にも着目し解析を始めた。その結果、過剰発現によりインターフェロンベータ遺伝子プロモーターを活性化可能な新たな分子を一つ同定することができた。現在、ノックダウンや過剰発現によりウイルスに対する応答性におけるこの分子の役割を解析している。さらに、MDA5の負の制御因子として新たに低分子量Gタンパク質Ar15Bの同定を行った。

10. キーワード

- (1) 自然免疫 (2) ウイルス感染 (3) シグナル伝達 (4) サイトカイン
 (5) _____ (6) _____ (7) _____ (8) _____

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1 / 7)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

遺伝子欠損マウスの作成を通して、ウイルス感染に対する自然免疫応答におけるMex3cの役割の解析を行った。その結果、Mex3c欠損マウス由来の細胞においては、RIG-Iで認識されるRNAウイルスに対するインターフェロンベータ産生が減少し、ウイルス感染に対して易感染性を示すことを見だし、ウイルスに対する自然免疫応答における重要性を明らかにすることができた。その分子メカニズムとして、Mex3cがRIG-Iに結合しユビキチン化を施すE3ユビキチンリガーゼとして機能していることを見いだした。また、Mex3cと相同性を示す分子やRNA結合分子に着目し解析を行った結果、過剰発現によりインターフェロンベータ遺伝子プロモーター活性化を誘導することのできる新たな分子の一つを見つけることができた。PIKfyveに関しては遺伝子欠損マウスの樹立に成功することができた。さらに、MDA5の負の制御因子として新たに低分子量Gタンパク質Ar15Bの同定を行った。Ar15B欠損マウス由来の細胞ではMDA5に対する自然免疫応答が上昇していた。以上のことから、おおむね順調に研究が進展しているといえる。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

Mex3cがRNA結合領域を有することから、ウイルスRNA認識に関わる可能性が考えられる。その為、今後両者の結合を生化学的に解析する。また、RIG-IとMex3cの細胞内での挙動を可視化技術により明らかにすることを目指す。RIG-IとMex3cがウイルス感染後にストレス顆粒と呼ばれる細胞質内顆粒へと細胞質より移動することから、Mex3c欠損マウス細胞におけるRIG-Iの動態を解析することで、Mex3cがRIG-Iの挙動を制御しているかどうか詳細な検討を行う。また、新たに見いだしたインターフェロンベータ遺伝子プロモーターを活性化することのできるRNA結合分子について詳しい解析を行う。具体的には、ノックダウンや過剰発現によりウイルス感染に対するサイトカイン産生に差が生じるか検討を行う。同時に、遺伝子欠損マウスあるいは細胞を樹立し、これらを用いてウイルスに対する自然免疫応答を調べる。また、現在樹立に成功しているPIKfyve欠損マウスに関しては、樹状細胞、マクロファージ、繊維芽細胞等を取り出し、ウイルス感染後の反応を解析する。個体レベルにおいては、ウイルスに対する抗体産生やT細胞応答等を調べることでウイルスに対する生体防御における役割を明らかにしていく。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

マウス骨髄由来樹状細胞及びマクロファージを培養中に予想外の雑菌コンタミネーションが起こり、実験の遅延が生じたため。

(使用計画)

マウス骨髄由来樹状細胞及びマクロファージ培養溶液に加えのサイトカインや培養に必要な器具(ピペット、ディッシュ)を購入する。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(7)件 うち査読付論文 計(7)件

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|--|-------|---|------|------------|--|
| Schmolke M, Patel JR, de Castro E, Sanchez-Aparicio MT, Uccellini MB, Miller JC, Manicassamy B, Satoh T, Kawai T, Akira S, Merad M, Garcia-Sastre A. | | RIG-I detects mRNA of intracellular Salmonella enterica serovar Typhimurium during bacterial infection. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| MBio. | 有 | 5 | 2014 | e01006-14. | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1128/mBio.01006-14. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|--|-------|--|------|----------|--|
| Kuniyoshi K, Takeuchi O, Pandey S, Satoh T, Iwasaki H, Akira S, Kawai T. | | Pivotal role of RNA-binding E3 ubiquitin ligase MEX3C in RIG-I-mediated antiviral innate immunity. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Proc Natl Acad Sci U S A. | 有 | 111 | 2014 | 5646-51. | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 1073/pnas.1401674111. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|--|-------|---|------|---------|--|
| Imanishi T, Ishihara C, Badr Mel S, Hashimoto-Tane A, Kimura Y, Kawai T, Takeuchi O, Ishii KJ, Taniguchi S, Noda T, Hirano H, Brombacher F, Barber GN, Akira S, Saito T. | | Nucleic acid sensing by T cells initiates Th2 cell differentiation. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Nat Commun. | 有 | 5 | 2014 | 3566 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1038/ncomms4566. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---------------------------|-------|--|---------------|---------|--|
| Kawasaki T, Kawai T. | | Toll-like receptor signaling pathways. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Front Immunol. | 有 | 5 | 2 0 1 4 | 461 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.3389/fimmu.2014.00461. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---|-------|--|---------------|---------|--|
| Kitai Y, Takeuchi O, Kawasaki T, Ori D, Sueyoshi T, Murase M, Akira S, Kawai T. | | Negative regulation of melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5)-dependent antiviral innate immune responses by Arf-like protein 5B. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| J Biol Chem. | 有 | 290 | 2 0 1 5 | 1269-80 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1074/jbc.M114.611053. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---------------------------------|-------|--|---------------|---------|--|
| Pandey S, Kawai T, Akira S. | | Microbial sensing by toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Cold Spring Harb Perspect Biol. | 有 | 7 | 2 0 1 4 | a016246 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1101/cshperspect.a016246. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---|-------|---|---------------|---------|--|
| Matsuda T, Murao N, Katano Y, Juliandi B, Kohyama J, Akira S, Kawai T, Nakashima K. | | TLR9 signalling in microglia attenuates seizure-induced aberrant neurogenesis in the adult hippocampus. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Nat Commun. | 有 | 6 | 2 0 1 5 | 6514 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1038/ncomms7514. | | | | | |

(学会発表) 計(6)件 うち招待講演 計(0)件

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|--|-------------------------|---|--|
| Sueyoshi T, Murase M, Murata R, Kawasaki T, Kawai T. | | Identification of HuR as a molecule that mediates antiviral innate immune responses | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第43回日本免疫学会学術集会 | 2014年12月10日～2014年12月12日 | 国立京都国際会館(京都府京都市) | |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|--|-------------------------|---|--|
| Kawasaki T, Tanaka R, Ito K, Akira S, Kawai T. | | Physiological role of the lipid kinase PIKfyve in innate immune responses | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第43回日本免疫学会学術集会 | 2014年12月10日～2014年12月12日 | 国立京都国際会館(京都府京都市) | |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|---|-------------------------|--|--|
| Kitai Y, Ori D, Sueyoshi T, Murase M, Kawasaki T, Kawai T | | Negative regulation of Mda5-mediated antiviral response by Arl5B | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第43回日本免疫学会学術集会 | 2014年12月10日～2014年12月12日 | 国立京都国際会館(京都府京都市) | |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---------------------------------------|--|-----------------|
| 鍛代悠一、織大祐、末吉拓也、村瀬本弥、川崎拓実、竹内理、審良静男、河合太郎 | Arl5B-mediated negative regulation of MDA5-dependent innate immune signaling | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第13回あわじしま感染症・免疫フォーラム | 2014年09月23日～2014年09月26日 | 奈良県新公会堂(奈良県奈良市) |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---------------------------------------|--|-----------------|
| 鍛代悠一、織大輔、末吉拓也、村瀬元弥、川崎拓実、竹内理、審良静男、河合太郎 | Arl5B negatively regulates Mda5-mediated innate immune signaling | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第66回日本細胞生物学会大会 | 2014年06月11日～2014年06月13日 | 奈良県新公会堂(奈良県奈良市) |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------|
| 川崎拓実、武村直紀、ダロンスランドリー、審良静男、河合太郎 | 免疫応答におけるホスファチジルイノシトール5リン酸の役割 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第66回日本細胞生物学会大会 | 2014年06月11日～2014年06月13日 | 奈良県新公会堂(奈良県奈良市) |

〔図書〕計(1)件

| 著者名 | 出版社 | |
|----------------|-------|-------|
| 末吉拓也、村瀬本弥、河合太郎 | 科学評論社 | |
| 書名 | 発行年 | 総ページ数 |
| 臨床免疫・アレルギー科 | 2014 | 7 |

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |

(取得) 計(0)件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | 出願年月日 | |
| | | | | | |

15.備考

| |
|--|
| |
|--|