

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 26 年度）

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 挑戦的萌芽研究 4. 補助事業期間 平成 26 年度～平成 27 年度

5. 課題番号

2	6	6	7	0	2	3	6
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 核酸受容体からの細胞死シグナルの免疫賦活化における役割

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

ウイルスや細菌の持つ核酸（RNA、DNA）やそれらを模倣するような合成核酸は抗原に対する獲得免疫応答を効率よく誘導するアジュバントとして作用する。こうした核酸は自然免疫受容体シグナル伝達経路を活性化し I 型インターフェロンや炎症性サイトカインを産生することで獲得免疫系の活性化を惹起する。一方、感染により細胞死が誘導されることが知られているが、その免疫制御における位置づけは不明な点が多い。本研究では、核酸刺激による細胞死誘導機構を明らかにするとともに、死滅した細胞から漏出する内在性因子を詳しく解析し、それらが獲得免疫成立や炎症性及び自己免疫疾患の発症において果たす役割を明らかにすることを目指すものである。そこで、自然免疫受容体に対する様々なアゴニストを用いてマウス骨髄由来樹状細胞を刺激し、その後の細胞死を解析したところ、合成二本鎖 RNA アナログである Poly (I:C) に加え、一本鎖 RNA 認識センサー TLR7 のアゴニストである化合物 R837 刺激により樹状細胞が死滅することを見いだした。一方、他の TLR アゴニストでは有為な細胞死の誘導は認められなかったことから、TLR7 のアゴニストにより細胞死誘導シグナルが伝達されることが考えられた。また、TLR7 アゴニスト刺激後の細胞死はアポトーシスではなくネクローシス様であった。現在、この細胞死誘導シグナル経路を解析するとともに、樹状細胞の中から細胞死に高感受性を示すサブセットの単離を目指している。

10. キーワード

- | | | | |
|----------|---------|----------|------------|
| (1) 自然免疫 | (2) 細胞死 | (3) 樹状細胞 | (4) サイトカイン |
| (5) 炎症 | (6) | (7) | (8) |

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)

今年度、細胞内RNAセンサーであるRIG-I-like receptors (RLRs)のアゴニストであるpoly (I:C)に加え、TLR7アゴニストであるR837刺激においても樹状細胞の細胞死が誘導されることを新たに見いだすことができた。Poly (I:C)と比べるとR837は樹状細胞に細胞死を誘導する活性が高いことを見いだした。さらに詳細に解析したところ、R837刺激により樹状細胞のみならずマクロファージ細胞株でも同様の細胞死が誘導されることが分かった。一方、繊維芽細胞やT細胞株では細胞死が誘導されなかったことから、自然免疫担当細胞(樹状細胞、マクロファージ)において何らかの細胞死誘導シグナル伝達経路が存在していると考えられた。このように、今年度は樹状細胞に細胞死を誘導する新たな自然免疫アゴニストを見つけることができた。以上のことから、おおむね順調に研究が進展していると言える。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

Poly (I:C)やR837刺激によりマウス骨髄由来樹状細胞の細胞死が誘導されることが判明したことから、この細胞死により放出される内在性因子の中から免疫賦活化に関わるものの同定を目指す。まず、既知の因子(HMGB1、HSP、DNAなど)が放出されるかをELISAやPCRにより判定する。また、それら内在性因子の認識に関わる受容体を同定するため、TLRやRLRファミリーメンバーを欠損したマウスから取り出した樹状細胞を用いて検討を行う。さらに、細胞死経路の阻害剤(ネクロスタチン1、カスパーゼ阻害剤等)を用いて、細胞死誘導に関わるシグナル伝達経路の詳細を明らかにしていく。一方、マウス骨髄由来樹状細胞のすべてに細胞死が誘導されているわけではないため、これら樹状細胞をさらに詳細なサブセットに分離(例えば、コンベンショナル樹状細胞、CD8陽性樹状細胞、形質細胞様樹状細胞など)し、それぞれのサブセット間における細胞死の割合を測定することで、細胞死に感受性の高いサブセットの同定を行う。これらサブセット同定後は、サブセット間での遺伝子発現等の違いを網羅的に解析することで、その特徴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の培養中に生じた雑菌のコンタミネーションにより実験に遅延が生じたため。

(使用計画)

マウス骨髄由来樹状細胞の培養に必要な細胞培養器具(ディッシュ、ピペット)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(6)件 うち査読付論文 計(6)件

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)					
doi: 10.1038/ncomms7514.					

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	1269-1280.	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
doi: 10.1074/jbc.M114.611053.					

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)					
doi: 10.3389/fimmu.2014.00461.					

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)					
doi: 10.1101/cshperspect.a016246.					

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	2 0 1 4	3566	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
doi: 10.1038/ncomms4566.					

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	2 0 1 4	5646-5651.	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1073/pnas.1401674111.					

(学会発表) 計(6)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題	
Takuya Sueyoshi, Motoya Murase, Rikito Murata, Takumi Kawasaki, Taro Kawai		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	
Takumi Kawasaki, Rika Tanaka, Kousuke Ito, Shizuo Akira, Taro Kawai		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	
Yuishi Kitai, Daisuke Ori, Takuya Sueyoshi, Motoya Murase, Takumi Kawasaki, Taro Kawai		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、ダロンスタンドリー、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(0)件

著者名	出版社		
書名		発行年	総ページ数

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

--