

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 21年 3月 31日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 東北大学・大学院 薬学研究科

職・氏名 (ふりがな) 教授・倉田 祥一郎
くらた しょういちろう

1. 事業名 相手国(フランス)との共同研究 振興会対応機関(UPR 9022 du CNRS)

2. 研究課題名 ショウジョウバエにおける自然免疫応答

3. 全採用期間

平成 19年 4月 1日 ~ 平成 21年 3月 31日 (2年 0ヶ月)

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 2,000 千円

初年度経費 1,000 千円、 2年度経費 1,000 千円、 3年度経費 0 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 20,000 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
くらたしょういちろう 倉田祥一朗	東北大学大学院薬学研究科・教授	研究全体の総括とショウジョウバエにおける自然免疫応答の研究の推進
いわたしんぞう 岩下真三	東北大学大学院薬学研究科・大学院生	ショウジョウバエにおける自然免疫応答の研究の推進
しおかわゆうこ 塩川祐子	東北大学大学院薬学研究科・大学院生	ショウジョウバエにおける自然免疫応答の研究の推進

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 UPR 9022 du CNRS・Professor・Jean-Marc Reichhart

(3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○ Jean-Marc Reichhart	UPR 9022 du CNRS・Professor（フランス）	ショウジョウバエ自然免疫応答の研究の推進のための研究交流
Vincent Leclerc	UPR 9022 du CNRS・Assistant Professor（フランス）	ショウジョウバエ自然免疫応答の研究の推進のための研究交流
Yves Tourrette	UPR 9022 du CNRS・Post-Doc Researcher（フランス）	ショウジョウバエ自然免疫応答の研究の推進のための研究交流
Annie Meunier	UPR 9022 du CNRS・Engineer（フランス）	ショウジョウバエ自然免疫応答の研究の推進のための研究交流
Laure El Chamy	UPR 9022 du CNRS・Ph. D. Student（フランス）	ショウジョウバエ自然免疫応答の研究の推進のための研究交流
Marie Husson	UPR 9022 du CNRS・Ph. D. Student（フランス）	ショウジョウバエ自然免疫応答の研究の推進のための研究交流

6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

自然免疫は、抗菌ペプチドの産生などにより、感染防御の最前線で働く免疫機構である。その基本的な機構は、昆虫からヒトまで進化の過程で保存されており、共通性が見られる。例えば、抗菌ペプチドや、サイトカインの産生を誘導するシグナル伝達系は、昆虫とヒトで共通性が見られ、昆虫の imd 経路は、ヒトの TNF 経路と相同性を示す。自然免疫の特徴は、それと対をなす獲得免疫が遺伝子の再編成によって生じる多様な受容体を用いて多様な非自己を認識するのに対して、ゲノムにコードされた有限の受容体で、多様な病原体を認識する点にある。自然免疫研究でモデル生物として研究が進んでいるショウジョウバエでは、ペプチドグリカン認識タンパク質 (PGRP) ファミリーに属する受容体が、病原体の認識に関わる。研究代表者は、PGRP ファミリーに属する PGRP-LE が、血液中で、グラム陰性菌などが有するジアミノピメリン酸 (DAP) 型ペプチドグリカン (PGN) を認識し、抗菌ペプチド産生を誘導する imd 経路を選択的に活性化することを明らかにした。PGRP-LE は、このような血液中での機能に加えて、免疫応答細胞の表面では、PGRP ファミリーで膜上に存在する PGRP-LC の共受容体として、DAP 型 PGN のモノマー (TCT) の認識に関わる。さらに、PGRP-LE は、免疫応答細胞内でも TCT の認識を行う多機能性を示す。この結果に呼応して、PGRP-LE は、細胞内寄生細菌で DAP 型 PGN を有するリステリア菌の感染抵抗性の発現に重要な役割を果たす。今後の研究としては、1. PGRP-LE がどのようにしてリステリア菌に対する感染抵抗性を誘導するのか、2. PGRP-LE がどのようにして下流のシグナル伝達系を活性化するのか、を明らかにすることが必要となる。そのために、ショウジョウバエのマクロファージ様細胞である S2 細胞を用いたゲノムワイド RNA-i スクリーニングにより、PGRP-LE により誘導されるリステリア菌の排除にかかわる因子の同定と、PGRP-LE が下流のシグナル伝達系を活性化するために必要とする因子の同定が次の研究課題となる。

本研究では、S2 細胞を用いたゲノムワイド RNA-i スクリーニングに優れた経験を有するフランス・ストラスブールの Jean-Marc Reichhart 教授と共同研究交流を深め、ゲノムワイド RNA-i スクリーニングの確立を目指した。平成 19 年度、20 年度にわたり、研究代表者がストラスブールの Jean-Marc Reichhart 教授のもとに滞在し共同研究交流を行い、また、フランス側からは Jean-Marc Reichhart 教授が、東北大学を訪れた。研究面では、PGRP-LE を発現させた S2 細胞とコントロールの親細胞に、リステリア菌を感染させ、DNA 発現マイクロアレイ解析を行い、PGRP-LE 依存にリステリア菌の感染に応じて発現が誘導される CG9080 遺伝子を同定した。この遺伝子はこれまで解析がなされていない遺伝子であり、RNA-i スクリーニングに用いるターゲット遺伝子の候補であった。しかしながら、その発現誘導は、RNA-i スクリーニングに用いるターゲット遺伝子としては、弱すぎる事が明らかとなった。そこで、リステリア菌の細胞内増殖を指標として、S2 細胞を用いたゲノムワイド RNA-i スクリーニングを行うこととした。そのために、リステリア菌の細胞内増殖をリアルタイムで検出できる感染レポーターを確立し、ゲノムワイド RNA-i スクリーニングの条件を確立した。この成果のためには、ゲノムワイド RNA-i スクリーニングに精通した Jean-Marc Reichhart 教授の研究グループとの共同研究交流が不可欠であった。この研究交流により、実験結果が二国間で共有され、その解析が進展し、共同研究の有機的な連携がはかられた。