

自然免疫系の活性制御機構の解析

Mechanism for regulation of innate immune responses

竹田 潔 (TAKEDA KIYOSHI)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

近年活性化機構が明らかになった自然免疫系による獲得免疫系活性化誘導機構、そして、その活性異常により発症する免疫疾患の制御機構を、自然免疫系を標的に明らかにすることを目的とする。自然免疫系の活性化に障害をもつマウスに感染モデルを導入し、獲得免疫系の活性化機構を明らかにし、また自然免疫系細胞の活性制御機構、それによる疾患制御機構を解析する。

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：自然免疫、粘膜免疫、炎症性疾患

1. 研究開始当初の背景

生体防御の中心を担う免疫系は自然免疫系と獲得免疫系から成り立っており、どちらも非自己を識別するが、20世紀までは獲得免疫系の抗原認識機構が詳細に解析されてきた。しかし、20世紀後半に **Toll-like receptor (TLR)** が発見され、その機能解析から、自然免疫系に病原微生物を特異的に認識するシステムが存在し、これによる自然免疫系の活性化が獲得免疫系の活性化をも制御していることが明らかになった。また、自然免疫系の活性異常が、種々の免疫病態に関与していることも国内外の研究から明らかになりつつある。申請者らは、自然免疫系の活性を負に制御する IL-10 のシグナルが消失し、自然免疫系が恒常的に活性化されると、慢性炎症性腸疾患の発症を導くことを見出した。このように、自然免疫系は、病原微生物を認識することにより生体防御において重要であるばかりでなく、その活性制御の破綻が種々の炎症性疾患、免疫疾患の引き金になることが示されてきている。これまで獲得免疫系を中心に、免疫系の破綻から発症する種々の免疫疾患の病因・病態あるいは感染防御機構が論じられてきた。しかし、その発症機構、治療法の確立に至っていない難治性免疫疾患がいくつも存在し、感染防御機構の完全な理解にも至っていない。これは、免疫応答のトリガーとなる自然免疫系に注目できず、結果として免疫応答を包括的に考慮することができていなかったためである可能性が考えられ

る。

2. 研究の目的

(1) 自然免疫系の個体レベルでの獲得免疫系への橋渡し機構を解析するため、自然免疫系の活性化に障害をもつマウスを用いて、原虫などの細胞内寄生性微生物の感染モデルを導入し、自然免疫系の不全による免疫応答の異常を解析し、自然免疫系から獲得免疫系の作動に至る分子機構を明らかにする。
(2) 自然免疫系の活性を制御する分子機構を明らかにする。そして、自然免疫系の活性の人為的制御技術の開発を通じた免疫疾患、特に炎症性腸疾患の新規治療法開発の基礎的基盤を提供する。

3. 研究の方法

(1) **TLR** を介した自然免疫系の活性化が消失するマウスにトリパノソーマ原虫を感染させ、その免疫応答の変化を解析し、自然免疫系活性化から獲得免疫系活性化にいたる分子機構を解析する。
(2) 自然免疫系細胞での **TLR** 依存性の遺伝子の発現誘導機構を核内 I κ B 分子群による制御機構を中心に解析する。

4. これまでの成果

(1) **Toll-like receptor (TLR)** を介した自然免疫系の活性化が、**Th1** 応答を中心とした獲得免疫系の誘導に重要であることが明らかになっている。そこで、トリパノソーマ原虫 *Trypanosoma cruzi* の感染モデルを、**TLR** を

介した自然免疫系の活性化の消失する MyD88/TRIF 二重欠損マウスに導入し、自然免疫系から獲得免疫系の橋渡し機構を解析した。その結果、*T. cruzi* 感染では、特に自然免疫系細胞において TLR 非依存的に NFATc1 が活性化され、IFN- γ が誘導され、獲得免疫応答が惹起されることを明らかにした。

(2) TLR 刺激による NF- κ B 依存性の遺伝子発現には早期誘導型と遅期誘導型があることを発見している。この分子機構を解析した。その結果、早期誘導型遺伝子プロモーターは、クロマチン構造が常に開いた状況にあり、その結果転写制御因子がアクセスし易く、遺伝子発現が早期に誘導されることが明らかになった。一方、遅期誘導型遺伝子プロモーターは、クロマチン構造が閉じており、TLR 刺激によって構造変換を受け、転写制御因子がアクセスすること、TLR 誘導性遺伝子産物 I κ B ζ が遅期誘導型遺伝子プロモーターのクロマチン構造変換に関与していることを明らかにし、TLR を介した自然免疫活性化制御機構の一端を明らかにした。

また、自然免疫細胞の異常活性化が炎症性腸疾患を引き起こすことを明らかにしていた。そこで、腸管に局在する自然免疫系細胞の解析を行った。その結果、腸管粘膜固有層には、他の組織にない特有の樹状細胞 (CD70^{high}CD11b^{high} 樹状細胞) が存在し、腸内細菌由来のアデノシン 3 リン酸 (ATP) 依存性に Th17 細胞分化を司るという、腸管特有の自然免疫系の活性制御機構を明らかにした。

5. 今後の計画

(1) これまで *T. cruzi* を用いて原虫感染と自然免疫応答の解析を行い、獲得免疫系への橋渡し機構を解析してきた。今後さらに、遺伝子改変の導入が可能な原虫 *Toxoplasma gondii* を用いて、宿主のみならず原虫側の遺伝子にも改変を加え、原虫と自然免疫系との相互作用を、特に原虫による自然免疫応答回避機構および Th1 誘導機構に焦点を当て、解析する。この解析により、細胞内寄生性原虫に対する自然免疫系の作動機構を明らかにし、さらに個体レベルでの獲得免疫系の活性化誘導を含めた免疫応答作動のメカニズムを明らかにしていく。また原虫だけでなく、細胞内寄生性の細菌として結核菌を用い、結核感染における自然免疫系活性化から獲得免疫系への橋渡し機構についても解析する。

(2) TLR 依存性の遅期誘導型遺伝子の発現誘導に I κ B ζ が関わっていることを明らかにしたが、このメカニズムをさらに詳細に明らかにするため、I κ B ζ に会合する分子を酵母 two hybrid 法により同定し、この分子による TLR 依存性の遺伝子発現機構を解析する。これにより、I κ B 分子群による自然免疫系の活性制御機構を明らかにする。

また、腸管に特有の自然免疫系細胞として CD70^{high}CD11b⁺CD11c⁺ 樹状細胞を同定し、その炎症誘導に関わる機構を明らかにした。この腸管特有の自然免疫細胞が、個体レベルでどのように腸管粘膜免疫系の制御に関与しているかを明らかにするため、我々が最近考案した特定細胞サブセット特異的ノックアウト法を用いて、これら細胞を特異的に欠損したマウスを作成し、その表現系を解析する。これらの解析により、自然免疫系細胞による腸管粘膜免疫系の制御機構を明らかにするとともに、これら自然免疫系の人為的活性制御法を開発し、炎症性腸疾患の新たな治療法創生に向けた基礎的基盤を築く。

6. これまでの発表論文等

[雑誌論文] (計 29 件)

- ① Yamamoto, M., Standley, D.M., Takashima, S., Saiga, H., Okuyama, M., Kayama, H., Kubo, E., Ito, H., Takaura, M., Matsuda, T., Soldati-Farve, D., and Takeda, K.: A single polymorphic amino acid on *Toxoplasma gondii* kinase ROP16 determines the direct and strain-specific activation of Stat3. *J. Exp. Med.* 206, 2747-2760, 2009. (査読有)
- ② Kayama, H., Koga, R., Atarashi, K., Mak, T. W., Takayanagi, H., Honda, K., Yamamoto, M. and Takeda, K.: NFATc1 mediates Toll-like receptor-independent innate immune responses during *Trypanosoma cruzi* infection. *PLoS Pathogens* 5, e1000514, 2009. (査読有)
- ③ Atarashi, K., Nishimura, J., Shima, T., Umesaki, Y., Yamamoto, M., Onoue, M., Yagita, H., Ishii, N., Evans, R., Honda, K., and Takeda, K.: ATP drives lamina propria TH17 cell differentiation. *Nature* 455, 808-812, 2008. (査読有)

[学会発表] (計 22 件)

- ① Kiyoshi Takeda, Innate immune responses at the intestinal mucosa. The 2009 Fall Conference of the Korean Association of Immunologists, 2009.11.9-10, Seoul, Korea
- ② Kiyoshi Takeda, Commensal bacteria-derived ATP mediates development of intestinal Th17 cells. RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2009 2009.7.9-10、横浜

[受賞]

第6回日本学術振興会賞 2010. 3. 1

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/ongene/index.html>