

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分  
平成31年3月8日現在

リソソームでの自然免疫系と代謝系のクロストークに関わる分子細胞基盤の  
解明

Cell and Molecular mechanisms underlying the interaction between  
the innate immune system and metabolism in lysosomes

課題番号：16H06388

三宅 健介 (MIYAKE, KENSUKE)

東京大学・医科学研究所・教授



研究の概要

核酸特異的 Toll 様受容体の応答は核酸の分解・代謝によって制御される。さらに代謝センサーからの制御も受ける。また、核酸特異的 TLR のシグナルは代謝系に影響を及ぼす。この代謝系と自然免疫系のクロストークの分子細胞基盤を本研究において解析する。すでにこのクロストークにリソソームの細胞内移行が深く関与することを報告している。

研究分野：免疫学

キーワード：自然免疫

1. 研究開始当初の背景

Toll 様受容体 (Toll-like Receptor, TLR) は病原体成分を認識し、感染防御応答を誘導する。病原体由来核酸は TLR の主要なリガンドであるが、自己由来核酸も TLR を活性化し、自己免疫疾患など多くの疾患の炎症病態に関わる。

核酸特異的 TLR はリソソームに局在している。リソソームでは、核酸は常に分解されており、結果として核酸特異的 TLR の活性化は抑制されている。しかしながら、DNA の分解には、DNA の認識に必要なプロセッシングとしての役割もある。また、RNA センサー TLR7、TLR8 が、Uridine や Guanosine に応答することから、TLR7、TLR8 による RNA 認識にヌクレオシドの代謝が関与する可能性もある。

mammalian Target of Rapamycin (mTOR) は細胞内の代謝状態を察知するセンサーであり、リソソームの代謝産物によって活性化される。同じリソソームに局在するにもかかわらず、TLR と mTOR との関係については不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、TLR による核酸認識と核酸代謝の関係、TLR と mTOR のクロストークについて、分子生物学および細胞生物学的手法を用いて解析し、リソソームにおける代謝系と自然免疫系との関係を統合的、高次的に理解することを目指す。

3. 研究の方法

核酸代謝と核酸認識の関係については、RNA の解析を中心に進める。リソソームでの RNA 分解に関わる RNase、およびグアノシンやウリジンの動態に関わるトランスポーターについて、TLR7/8 応答における役割を検討する。RNase やトランスポーターの機能欠損によって誘導される病態についても検討する。

リソソームにおける、核酸特異的 TLR による I 型インターフェロン (Interferon, IFN) 産生誘導と代謝センサー mTOR との関係についても検討する。特にリソソームの細胞内移行の役割について細胞生物学的手法を用いて検討する。

4. これまでの成果

核酸代謝と核酸認識の関係については、順調に解析が進んでいるが、まだ論文発表にまでは至っていない。一方、核酸特異的 TLR による I 型 IFN 産生と代謝センサー mTOR との関係については、論文を 2 報発表している。

形質細胞様樹状細胞において TLR7 を含むリソソームが刺激依存性に細胞膜直下に移行・集積することを見出した。TLR7 は GTPase Arl8b と会合し、Arl8b とそのエフェクターである SKIP 依存性に細胞膜直下に移行することを明らかにした。さらに、mTOR は恒常的に I 型 IFN 産生に必須のシグナル伝達分子 IKK $\alpha$  や TRAF3 と会合していた。一方、TRAF6

と TRAF3 の会合がリガンド依存性、Arl8b 依存性に認められた。TRAF6 は炎症性サイトカイン、I 型 IFN の両方に必要なシグナル伝達分子であり、TLR7 に会合していると考えられる。ほぼ同時期に他のグループから、リソソームが mTOR を活性化すると同時に Arl8b 依存性に細胞膜直下へ移行することが報告された。これらの結果から、TLR7-TRAF6 を含むリソソームと TRAF3-mTOR を含むリソソームがともに Arl8b 依存性に移行し、細胞膜直下に集積することで I 型 IFN 産生が誘導される可能性が示された。この結果は、TLR7 が細胞膜直下に位置する mTOR やそれに会合する I 型 IFN シグナル伝達分子に向かって移行している可能性を示している。TLR による I 型 IFN 産生は mTOR による代謝系からの許可があって初めて誘導が許されるが、TLR はその許可をもらうために mTORC1 まで移行している可能性が示された。これらの結果は業績 4 (Nat Commun 2017) にて報告した。

TLR3 も、TLR7 と同様に刺激後核周囲から細胞膜近傍へ移行することを見出した。TLR7 と同様に、細胞膜直下への移行が I 型 IFN 産生に重要であった。そこで、その細胞内移行について解析を進めたところ、TLR7 と異なり、Arl8b ではなく、Rab7a と常に会合しており、細胞内移行に Rab7a を必要とすることが明らかになった。TLR3 が炎症性サイトカインを産生する際には TRAF6 と会合し、I 型 IFN 産生の際には TRAF6 に加えて TRAF3、mTORC1 と会合した。これらの結果は、上述の TLR7 についての結果と矛盾しない。TLR3 の細胞内移行は、mTOR や I 型 IFN 産生シグナル伝達分子と会合するためのものであり、I 型 IFN 産生の代謝系からの制御に関与していることが示された。この結果は業績 2 (Nat Immunol 2018) において報告した。

##### 5. 今後の計画

リソソームにおける自然免疫系と代謝系との関係については、すでに報告している。今後は、この解析を続けるとともに、RNA の分解・代謝と RNA センサーの関係についての解析を論文としてまとめることを目指す。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
  1. Furusho, K., T. Shibata, R. Sato, R. Fukui, Y. Motoi, Y. Zhang, S. I. Saitoh, T. Ichinohe, M. Moriyama, S. Nakamura, and K. Miyake. 2018. Cytidine deaminase enables Toll-like receptor 8 activation by cytidine or its analogs. *Int Immunol*.
  2. Sato, R., A. Kato, T. Chimura, S. I. Saitoh, T. Shibata, Y. Murakami, R. Fukui, K. Liu, Y. Zhang, J. Arai, G. H. Sun-Wada, Y. Wada, T. Ikenoue, G. N. Barber, T. Manabe, Y. Kawaguchi, and K. Miyake. 2018. Combating herpesvirus encephalitis by potentiating a TLR3-mTORC2 axis. *Nat Immunol* 19: 1071-1082.
  3. Fukui, R., C. Yamamoto, F. Matsumoto, M. Onji, T. Shibata, Y. Murakami, A. Kanno, T. Hayashi, N. Tanimura, N. Yoshida, and K. Miyake. 2018. Cleavage of Toll-like Receptor 9 Ectodomain Is Required for In Vivo Responses to Single Strand DNA. *Front Immunol* 9: 1491.
  4. Saitoh, S. I., F. Abe, A. Kanno, N. Tanimura, Y. Mori Saitoh, R. Fukui, T. Shibata, K. Sato, T. Ichinohe, M. Hayashi, K. Kubota, H. Kozuka-Hata, M. Oyama, Y. Kikoko, T. Katada, K. Kontani, and K. Miyake. 2017. TLR7 mediated viral recognition results in focal type I interferon secretion by dendritic cells. *Nat Commun* 8: 1592.
  5. Sato, R., T. Shibata, Y. Tanaka, C. Kato, K. Yamaguchi, Y. Furukawa, E. Shimizu, R. Yamaguchi, S. Imoto, S. Miyano, and K. Miyake. 2017. Requirement of glycosylation machinery in TLR responses revealed by CRISPR/Cas9 screening. *Int Immunol* 29: 347-355.
  6. Murakami, Y., R. Fukui, Y. Motoi, T. Shibata, S. I. Saitoh, R. Sato, and K. Miyake. 2017. The protective effect of the anti-Toll-like receptor 9 antibody against acute cytokine storm caused by immunostimulatory DNA. *Sci Rep* 7: 44042.
  7. Miyake, K., T. Shibata, U. Ohto, T. Shimizu, S. I. Saitoh, R. Fukui, and Y. Murakami. 2018. Mechanisms controlling nucleic acid-sensing Toll-like receptors. *Int Immunol* 30: 43-51.
7. ホームページ等  
<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/kanseniden/index.html>