

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：自然免疫システムの分子機構の解明

2. 研究代表者：審良 静男

(大阪大学微生物病研究所癌抑制遺伝子研究分野 教授)

3. 研究内容及び成果：

免疫系の大きな柱である自然免疫系と獲得免疫系のなかで、T細胞やB細胞が主役を務める獲得免疫系は、免疫反応の特異性と多様性を規定していることから、従来までは免疫学の研究の主流であり、精力的に解析されてきた。一方、自然免疫系は、非特異的免疫と呼ばれ、その分子機構については全く理解されていなかった。しかしながら、最近、Toll-like receptorの発見、機能解析を通じて、自然免疫系の活性化が、高次機能を有すると言われている獲得免疫系の活性化の誘導に必須であることが明らかになってきた。獲得免疫系の分子機構の解明にもかかわらず、多くの免疫疾患の治療はいまだ成功していないし、免疫系を自由自在に人為的に操作（免疫を活性化させたり不活化させる）することができていない。それは、いまだ免疫系の本体が完全に理解されていないからである。このため、新世紀において種々の疾患での免疫療法の導入を可能にするためにも、ぜひ自然免疫系の解明が必要である。そこで本プロジェクトでは、自然免疫システムを、病原体の侵入を察知する機構をToll-like receptorの機能や、細胞内シグナル伝達経路の分子機構の解析を中心に、分子レベル、生体レベルで明らかにしていくことを目的として研究を展開してきた。具体的には(1) Toll-like receptorsのリガンドの同定、(2) Toll-like receptorを介するシグナル経路の解析、(3) Toll-like receptors の免疫反応および感染症・免疫病における役割、の3つの研究プロジェクトを設け、研究を行ってきた。

(1) Toll-like receptorsのリガンドの同定では、これまでに、TLR4がグラム陰性菌の細胞壁主要構成成分であるリポ多糖、TLR2がグラム陽性菌の細胞壁に多く存在するペプチドグリカンや種々の微生物の細胞壁に存在するリポタンパク質を認識し、生体に炎症反応を惹きおこすための必須の受容体であることを証明した。さらに、TLR9が微生物に特有のDNAを認識することを発見した。これらの結果から、それぞれのTLRファミリーが病原体の構成成分を特異的に認識することを明らかにしてきた。この研究をさらに発展させ、TLR2と構造の似通ったTLR1とTLR6がそれぞれTLR2と機能

的に協調し、リポタンパク質のなかで、それぞれトリアシル基、ジアシル基の付加の些細な構造の違いを識別していることを明らかにした。さらに、病原体の構成成分だけでなく、免疫賦活作用を有する合成化合物もTLRファミリーメンバーが認識しうることを、TLR7がヒトパピローマウイルスの感染症である尖形コンジローマの治療薬として臨床応用されているイミダゾキノリン化合物を認識する事実から明らかにした。この結果は、TLRファミリーを活性化させる合成化合物の検索が、感染症、癌などの種の疾患の応用にもつながることを示唆したものである。

(2) Toll-like receptorを介するシグナル経路の解析では、これまでに、TIRドメインを有するアダプター分子MyD88が、すべてのTLRファミリーによる炎症性サイトカインの産生誘導に必須の役割を果たすことを示していた。しかし、TLRごとに、細胞内シグナル伝達経路が微妙に異なっており、TLR4シグナルでは、MyD88を介さないシグナルがIRF3の活性化を通じてIFN γ を誘導し、IFN γ が樹状細胞の成熟や種々のIFN誘導性遺伝子の誘導などを引き起こすことを明らかにした。さらに、TIRドメインを有する第2のアダプターTIRAP/Ma1の生理機能を、ノックアウトマウスを用いて解析し、TIRAP/Ma1がTLR2とTLR4を介したMyD88依存性のシグナルに特異的に関与していることを明らかにすることができた。この結果は、TIRドメインを有するアダプター群が各TLRのシグナル伝達経路の特異性を規定している可能性をも示唆して。そこで、第3のTIRドメインを有するアダプターTRIFを同定することもできた。この生理機能は、ノックアウトマウスの作製をまたなければならないが、*in vitro*の解析から、TRIFはTLR3を介したIFN α の誘導シグナルに関与していることが考えられる。

(3) Toll-like receptorsの免疫反応および感染症・免疫病における役割では、樹状細胞の機能をTLRファミリーの関与を中心に解析し、MyD88を介したシグナルがTLR刺激によるTh1反応の誘導に必須であり、MyD88非存在下では樹状細胞は生体をTh2反応優位に導くことを明らかにした。この結果は、TLRファミリーによる樹状細胞などの自然免疫担当細胞の機能制御が、獲得免疫系の活性をも制御していることを直接しめすものである。また、マクロファージの活性がIL-10により活性化されるStat3により負に制御されており、Stat3がマクロファージで特異的に欠損すると、マクロファージがIL-12をはじめとした炎症性サイトカインを大量に産生するようになり、その結果Th1優位な慢性大腸炎を引き起こすことを明らかにした。さらに、炎症性サイトカインの異常産生は、TLR4による病原体の認識が最初のきっかけとなることも示すことができた。この結果は、TLRを介した病原体の認識が慢性炎症性腸疾患を引き起こすトリガーともなることを示した者である。

このように、各プロジェクトでそれぞれ意義ある結果を挙げることができ、その結果、自然免疫システムがTLRファミリーによって絶妙に制御されていることを明らか

にすることができた。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果

審良博士は平成7年-13年に亙りCREST研究領域において「遺伝子改変に基づく生体防御システムの解明」に関する先導的研究を行い多くの業績を挙げている。ここで得られた結果の中で世界的に注目された自然免疫におけるToll様受容体の機能をさらに解明し、感染防御やがん予防などに役立てるための研究を本組織（SORST）で継続・発展させ成果を挙げている。その内容はアカデミックに高度のものであり、また、実質的な価値もある。TLRのリガンド、細胞内情報伝達をことごとく明らかにし、自然免疫に対する考え方を一変した。それらの成果はトップジャーナルに発表され、国際的にも非常に高い評価をえている。TLRの特異性、特にTLR9の特異性を明らかにしたことは世界で初めてである。またTLRのシグナル伝達機構にしてもMyD88非依存性機構など、他の研究者に多大な影響を与えている。

当初目的とした1) Toll様受容体に働く因子（リガンド）の同定では感染微生物成分、薬剤などをリガンドとする受容体を特定、2) Toll様受容体刺激後のシグナル伝達経路の解明、3) Toll様受容体の免疫反応および感染症・免疫病における役割、など計画した課題・目的を見事に達成し、発表している。

研究は代表者を中心とした単一グループで行われ、従って研究の方向や計画も極めて効率的、かつ能率的に遂行されている。しかも、これだけ大きなスケールの仕事を、世界をリードする形で行ったのだから、研究費はこれでも不十分だったと言えるかもしれない。

研究成果はNatureを始め、いわゆるインパクトファクターの高い国際誌に発表され、その引用件数も我が国の免疫関連研究の中ではトップの位置を占めている。また、国内、国外での学会等における口頭発表も多く、多数の国際学会への招待も受けている。

特許は国内外に4件出願されている。知的所有権は特許出願（遺伝子改変動物）などで確実に保持されている。トランスジェニック動物のライセンスも行われている。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

本研究成果は感染症や免疫病の新しい予防法の開発に大きく貢献すると考えられると共に、基礎分子生物学、免疫学の観点からも極めてレベルの高いものである。技術的には遺伝子改変の技術を駆使して動物での目的遺伝子の働きを明らかにする方法を拡大した点およびそのマウスを供給することなどで、世界中のTLRの研究者に貢献している点が高く評価できる。1997年以降の掲載論文で研究代表者の論文が免疫分野で第一位であったことからインパクトの大きさが伺える。

研究成果の水準が高いことは発表論文の引用が極めて高いことから伺え、Toll様受容体の研究では世界をリードしている。TLR9がCpGの受容体であることを明らかにしたことは非常に大きなインパクトを与えた。シグナル伝達に関する仕事も含めこの分野では他の追随を許さなかった。

類似の研究成果と比べても非常に高く評価されている。実際に多くの海外の学会に招待されていることだけを見てもそのことが伺える。TLR9はまったく最初のものであり、また、他の競争相手があった結果においてもノックアウトマウスでの証明を進めることで、最終的な結論を導いた点も高く評価できる。

本研究の成果は医学的価値も高く、感染症や免疫疾患、さらにはがんの予防などにも資すると思われる。自然免疫と獲得免疫のリンクを明らかにし、生体防御の概念を変えた。TLRの研究はこれまで距離があった微生物学と免疫学との橋渡しになった点で、大きなインパクトがあった。感染実験が最も重要であるが、TLRのノックアウトマウスは感染実験に大きく貢献している。

これまでの免疫系（獲得免疫）に加え、最近では自然免疫系が注目され、Toll様受容体研究の更なる進展は自然免疫の概念構築に重要な意味を持つと同時に、上記のような医学的な利用への実現に向かった研究が期待される。TLRのシグナル伝達機構がすべて明らかになったわけではなく、まだ多くの疑問が残っている。これを明らかにするうえで、世界の先頭に立っており、今後の展開が期待できる。

4-3. 総合的評価および特記事項

本研究は最近の我が国の自然科学、医学研究の中でもトップを行くものであり、今後もその発展が期待される。研究成果の一部（敗血症の関連タンパク）が新聞に大きく報道されたことや、野口英世記念医学賞ならびに大阪科学賞を受賞するなど、本研究や審良博士に対する学会、社会の評価は極めて高い。ERATOプロジェクトでの更なる発展を期待する。