

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」  
平成24年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告
----------------

竹内 理

京都大学ウイルス研究所・教授

自然免疫における転写後調節を介した慢性炎症抑制メカニズムの解析

## §1. 研究実施体制

(1)「竹内」グループ

① 研究代表者: 竹内 理 (京都大学ウイルス研究所、教授)

② 研究項目

1. RNA 分解による慢性炎症調節メカニズムの解析
2. TLR シグナルによる転写後 mRNA 安定化機構の解析
3. I 型 IFN 産生における転写後制御機構の解析

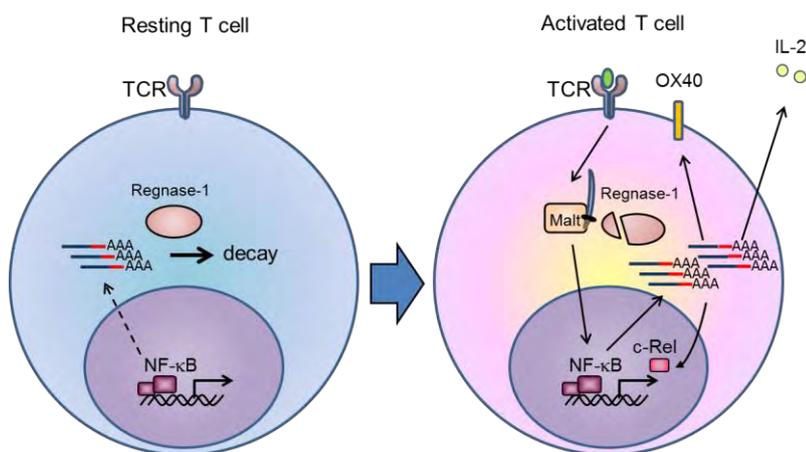
## §2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

### 1. RNA 分解による慢性炎症調節メカニズムの解析

我々はこれまでに、免疫系の細胞に発現する新規 RNase 蛋白質 Regnase-1 を同定し、この分子がマクロファージなどにおいて Toll-like receptor (TLR) 刺激に対する IL-6 mRNA 産生を 3' 非翻訳領域を介して抑制している事を明らかにしてきた。また、Regnase-1 はマウスにおいて、自己免疫性炎症性疾患の発症抑制に非常に重要である。また、Regnase-1 は T や B 細胞にも発現することから、組織特異的 Regnase-1 欠損マウスを作製し T 細胞における役割を検討した。その結果、T 細胞における Regnase-1 欠失

のみで、著明な T 細胞活性化を認め、Regnase-1 が T 細胞においても c-Rel や ICOS とした特異的な標的 mRNA を分解して T 細胞の異常なエフェクター遺伝子発現を調節している事が明らかとなった。

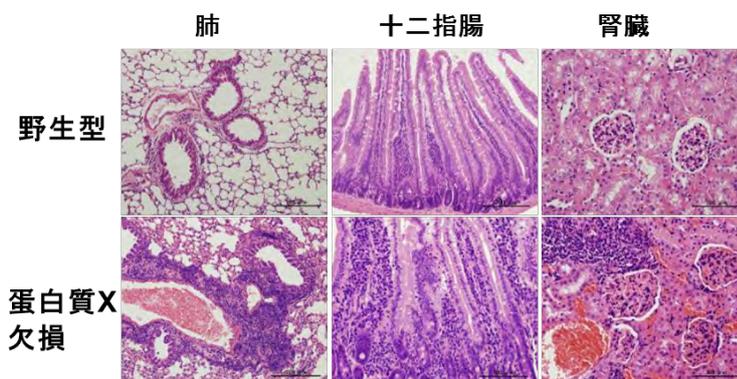


また、Regnase-1 蛋白質は T 細胞受容体刺激に対し、シグナル伝達

図1 Regnase-1 の T 細胞における役割、制御

に重要な蛋白質分解酵素である MALT1 により切断を受け、発現を失うことが分かった(図1)(3)。このように Regnase-1 は細胞種により異なったメカニズムで制御され、免疫応答の抑制に関わると考えられる。Regnase-1 は細胞質に局在するが、その標的 RNA 抑制の分子機構に関して、細胞生物学的手法を用いて解析を行っている。

Regnase-1 はその RNase 領域の相同性からいくつかのファミリー分子を持つ。中でも蛋白質 X は核に局在し、Regnase-1 とは異なる機能を持つと考えられる。我々がこの分子を欠失するマウスを作製したところ、



慢性的な経過をたどり糸球体腎炎や腸炎などの病変を発症した(図2)。また、

図2 蛋白質 X 欠損による炎症性疾患発症

マクロファージにおいて TLR 刺激に対するサイトカイン産生が亢進しており、蛋白質 X は核内において新生 RNA の代謝に関わっていると推測している。今後、この蛋白質 X 欠損マウスの病態形

成における免疫細胞の役割、また、その分子メカニズムに関し更に検討を進めていく。

## 2. TLR シグナルによる転写後 mRNA 安定化機構の解析

これまでに我々は、TLR シグナルが **Regnase-1** を調節することにより **IL-6** 産生の調節に関わる事を明らかにしてきた。しかしながら、**IL-6** 以外の様々なサイトカイン mRNA 半減期も炎症において変化する事が分かっている。そこでその新規分子機構を明らかにするために、**IL-6 3'UTR** の配列を **Luciferase** 遺伝子の下流に配したレポータープラスミドを、**HEK293** 細胞に一連の RNA 結合ドメインを持つ蛋白質をコードする遺伝子の発現ベクターと共に発現させ、**Luciferase** 活性を変化させる遺伝子のスクリーニングを行なっている。また、これまでに TLR シグナルに関わる事が示唆されている分子に関し、そのサイトカイン産生調節メカニズムに関する役割を検討する事からもアプローチを行う。本年度これまで、**K63** 型ユビキチン結合蛋白として知られた **TAB2**、及び **TAB3** の生体内における機能を検討したが、マクロファージではサイトカイン mRNA 発現に対して全く寄与しておらず、**B** 細胞の活性化制御が主な役割である事が明らかとなった。今後スクリーニングにより得られた分子に関して機能解析をしていく予定である。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### ● 論文詳細情報

1. Daisuke Ori, Hiroki Kato, Hideki Sanjo, Sarang Tartey, Takashi Mino, Shizuo Akira and Osamu Takeuchi “Essential roles of K63-linked polyubiquitin binding proteins, TAB2 and TAB3, in B cell activation via MAPKs1.” J Immunol. Vol. 190 No. 8, pp4037-4045. 2013 (doi: 10.4049)
2. Masahiro Fukasaka, Daisuke Ori, Tatsukata Kawagoe, Satoshi Uematsu, Kenta Maruyama, Toshihiko Okazaki, Tatsuya Kozaki, Tomoko Imamura, Sarang Tartey, Takashi Mino, Takashi Satoh, Shizuo Akira and Osamu Takeuchi ”Critical role of AZI2 in GM-CSF-induced dendritic cell differentiation.” J Immunol. (In press)
3. Takuya Uehata, Hidenori Iwasaki, Alexis Vandenbon, Kazufumi Matsushita, Eduardo Hernandez Cuellar, Kanako Kuniyoshi, Takashi Satoh, Takashi Mino, Yutaka Suzuki, Daron M. Standley, Tohru Tsujimura, Hiromi Rakugi, Yoshitaka Isaka, Osamu Takeuchi and Shizuo Akira “Malt1-Induced Cleavage of Regnase-1 in CD4+ Helper T Cells Regulates Immune Activation” Cell (In press)

#### (3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)