

谷口 維紹

東京大学・生産技術研究所
特任教授

核酸を主体とした免疫応答制御機構の解明とその制御法の開発

§ 1. 研究実施体制

(1) 谷口グループ

① 研究代表者: 谷口 維紹 (東京大学・生産技術研究所・特任教授)

② 研究項目

研究実施項目 1. HMGB タンパク群による核酸認識と下流で機能する核酸認識受容体の活性化機構の解析

- HMGB1 遺伝子 conditional knock-out マウスの作成と解析
- HMGB1 結合蛋白の機能解析と遺伝子欠損マウスの作製

研究実施項目 2. 低分子化合物による免疫系の制御法の開発

- HMGB アンタゴニストの改良とマウス疾患モデルにおける評価
- IMF001 の作用機序の解析

研究実施項目 3. 細胞質内 DNA による自然免疫系の活性化における RIG-I 様受容体依存性経路と非依存性経路の分岐メカニズムの解析

- RIG/MDA5 両欠損細胞の解析
- RIG-I 非依存性経路を担う新規 DNA センサーの探索

研究実施項目 4. 壊死細胞による免疫系惹起のメカニズムとその生物学的意義の解析

- 壊死細胞による自然免疫系活性化機構の解析

研究実施項目 5. DNA 認識受容体 DAI の機能解析

- DAI 下流シグナル伝達経路および DAI の生理的機能の解析

研究実施項目 6. 細胞質核酸認識受容体と Toll-like receptor の免疫シグナルの違い・クロストークメカニズムの解析

- 両経路の違い・クロストークを制御する分子機構の解析

§ 2. 研究実施の概要

ウイルスや細菌由来の DNA や RNA などの核酸は、免疫応答を強く活性化することが知られている。また、強い炎症や壊死などを生じた際に細胞から放出される核酸によっても免疫応答が活性化され、これが炎症関連疾患や自己免疫疾患などの病態を悪化させることが明らかとなりつつある。本研究では、これら核酸が、どのように免疫応答を活性化するのか、その機構を明らかにすると同時に、核酸によって活性化される免疫応答を制御する薬剤の開発を通じて、炎症関連疾患、自己免疫疾患、感染症といった病態の抑制法の原理の確立とその応用利用を目指している。

平成25年度においては、我々が核酸認識による自然免疫系の活性化全体において共通のメカニズムを担う分子として同定した HMGB1 (High mobility group box protein 1) 分子の生体内での役割について評価するため作製したコンディショナルノックアウトマウスを用いて、HMGB1 が感染、炎症における役割について解析を行った。マクロファージや好中球など、ミエロイド系列の細胞群特異的に HMGB1 を欠失したマウスを作製し、このマウスに細菌由来分子の一つである LPS (リポポリサッカライド) を投与したところ、HMGB1 欠損マウスでは、コントロールマウスと比較し、IL-1 β や IL-18 などの炎症性サイトカインの誘導が顕著に増強され、LPS 投与によって起きるショック死を起こし易いことが判明した。この炎症性サイトカインの産生にはインフラサームと呼ばれる機構が必要なが明らかとなっており、この制御にオートファジーと呼ばれる機構が関与することが知られている。HMGB1 欠損細胞では、このオートファジーに異常があり、これが炎症性サイトカインの産生の上昇に関与しているのではないかと考えられた。また、オートファジーは感染した細菌の排除に重要であることが知られているが、実際、HMGB1 を欠損させたマウスではリステリア菌の感染に非常に脆弱であることが判明した。これらの応答は細胞内で起きており、HMGB1 は細胞内において、炎症の抑制、細菌の排除に重要な役割を果たしていることがはじめて明らかとなった。これらの結果は論文にまとめて発表した (Yanai et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 20699-20704, 2013)。一方で、HMGB1 は細胞外に放出され、炎症性サイトカインとして機能することも知られており、細胞外 HMGB1 の働きを抑制することで炎症を制御できる可能性が示唆されている。今後はこの細胞外 HMGB1 の機能に焦点を当て、明らかにして行く予定である。また、開発研究の面において、炎症を抑制する IMF001 化合物が得られていたが、平成25年度において、IMF-001 にリンカーを結合させた化合物の作製に成功しており、このリンカー化合物を用いて直接の標的タンパクの同定を進め、複数の候補タンパクを同定した。さらにこれらの候補タンパクの中から IMF-001 の薬効に関わるタンパクの同定を進め、更なる開発研究へと研究を進める予定である。さらに我々は、平成24年度において、細胞質内で核酸認識に関わる受容体のシグナルが、病原体由来分子の認識に関わる TLR (Toll-like receptor) のシグナルの一部を抑制する現象を見出したが、平成25年度において、逆に TLR シグナルが細胞質内核酸認識受容体シグナルによる I 型 IFN の誘導を抑制することを新たに見出した。異なる種類のシグナルがこのような相互干渉機構を有していることは、自己免疫疾患や過度の炎症を抑制するような、生体の恒常性維持に必要である可能性が考えられる。これらの結果についても論文にまとめて発表した (Negishi et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 19884-19889, 2013)。本研究の解析は当初計画に沿って行われており、今後、これら一連の検討をさらに進めていくことで、自己免疫疾患・敗血症などの免疫病態の制御に有効な抑制化合物の開発を可能にしていきたいと考えている。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., Kim, S., Fritz, J. V., Wilmes, P., Ueha, S., Matsushima, K., Ohno, H., Olle, B., Sakaguchi, S., Taniguchi, T., Morita, H., Hattori, M., and Honda, K.; Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 500, 232-236 2013. (doi:10.1038/nature12331)
2. Ikushima, H., Negishi, H., and Taniguchi, T.; The IRF family transcription factors at the interface of innate and adaptive immune responses. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Volume LXXVIII, in press, 2013. (doi: 10.1101/sqb.2013.78.020321)
3. Negishi H, Matsuki K, Endo N, Sarashina H, Miki S, Matsuda A, Fukazawa K, Taguchi-Atarashi N, Ikushima H, Yanai H, Nishio J, Honda K, Fujioka Y, Ohba Y, Noda T, Taniguchi S, Nishida E, Zhang Y, Chi H, Flavell RA, Taniguchi T: Beneficial innate signaling interference for anti-bacterial responses by a TLR-mediated enhancement of the MKP-IRF3 axis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 49, 19884-9 2013. (doi:10. 1073/pnas.1320145110/-/DCSupplemental.)
4. Yanai, H., Matsuda, A., An, J., Koshiba, R., Nishio, J., Negishi, H., Ikushima, H., Onoe, T., Ohdan, H., Yoshida, N., and Taniguchi, T.; Conditional ablation of HMGB1 in mice reveals its protective function against endotoxemia and bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 110(51): 20699-704, 2013. (doi:10.1073/pnas.1320808110/-/DCSupplemental.)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)