

研究種目：若手研究(S)

研究期間：2007～2011

課題番号：19679003

研究課題名(和文) 自然免疫系の活性制御機構の解析

研究課題名(英文) Mechanism for regulation of innate immune responses

研究代表者

竹田 潔 (TAKEDA KIYOSHI)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20309446

研究代表者の専門分野：免疫学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学(6913)

キーワード：(E)自然免疫、(G)粘膜免疫

1. 研究計画の概要

(1)自然免疫系の個体レベルでの獲得免疫系との連携も含めた免疫応答における重要性を解析するため、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個体レベルで解析し、自然免疫系の作動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。

2. 研究の進捗状況

(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 二重欠損マウスを導入し、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これまでに発見している。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されやすくなること、そして 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これまでに明らかにしていた。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 細胞分化を司っているという、腸管特有の自然免疫系の活性制御機構を明らかにした。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

1. に記載している研究計画に沿って、研究が進展し、成果を挙げてきたと考えられる。さらに、腸管特有の自然免疫系活性制御機構も明らかにできている。

4. 今後の研究の推進方策

(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のメカニズムに焦点を当て、詳細に解析していく。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。

(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これまで明らかにしてきたが、逆にその発現抑制に同じファミリーに属する I κ BNS が関与していることをこれまでに明らかにしている。この I κ BNS による TLR 依存性の遺伝子発現抑制機構を解析する。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^{hi}CD11b^{hi} 樹状細胞を同定し、その炎症誘導に関わるメカニズムを明らかにしてきた。しかし、腸管粘膜固有層には、他にも特有の自然免疫系細胞が存在している。我々は、まだ誰も報告していない腸管特有の自然免疫系細胞を同定して、この細胞が腸管炎症の抑制に関与していることを見出している。この細胞が、腸管で腸内細菌などによりどのように活性化され、T 細胞などの活性を制御し、腸管炎症を抑制しているか、を順次分子レベルで解析する。また、これら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、我々が最近開発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。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[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

[図書] (計 2 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: T細胞活性化を抑制する腸粘膜特有のミエロイド細胞およびその利用

発明者: 香山尚子、竹田潔

権利者: 大阪大学

種類: 特許権

番号: 特願 2009-241034

出願年月日: 平成 21 年 10 月 20 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

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