

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390120

研究課題名(和文) エフェクター選別性の樹状細胞活性化機構

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of dendritic cell maturation in response to pattern sensing

研究代表者

瀬谷 司 (SEYA, Tsukasa)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10301805

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円、(間接経費) 4,560,000円

研究成果の概要(和文)：抗RNAウイルス応答においてtype I IFNが急性感染、細胞性免疫が持続感染の主要な防御因子であり、その誘導には複数のRNAセンサーが関与する。マウス感染実験ではTLR3を強発現するCD8a+ 樹状細胞が抗原の提示とNK細胞の活性化を誘起した。RNAは主に外因的に取り込まれendosomal TLR3がCTL誘導を助長した。複数のRNAセンサーは様々なウイルス種の振る舞いに対応するバリエーションであり、ウイルス種ごとに異なったRNAセンサーが関与して抗ウイルスの免疫応答を形成した。

研究成果の概要(英文)：RNA virus response results in induction of type I interferon (IFN) and cellular immunity. Type I IFN is a pivotal factor for host cell protection against acute viral infection, whereas dendritic cells (DC), consisting of multiple subsets, induce variable responses against chronic viral infections. CD8a+ DC express high levels of TLR3 and represent cross-presentation of exogenous antigens. They also induce NK cell activation against viruses. Viral RNA is taken up into the endosome where TLR3 is situated in CD8a+ DC. TLR3 is profoundly involved in the step of CTL induction, namely cross-priming. The presence of multifarious RNA sensors reflects the variation of viral species, each of which behaves differentially to survive in the host. A variety of antiviral immune response reflects the presence of RNA sensors covering RNAs with virus-to-virus differences in various host cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：自然免疫 Toll-like receptor 樹状細胞 TICAM-1 IPS-1

1. 研究開始当初の背景

当初、ウイルス RNA 認識に關与するパターン認識レセプターが同定され、type I インターフェロン (IFN) の誘導経路が同定されていた。しかし、樹状細胞が抗 RNA ウイルスの NK 細胞、CTL を活性化する樹状細胞側の機構は明らかでなかった。感染細胞が樹状細胞を含まない感染例で樹状細胞が如何に成熟化するかも不明であった。

2. 研究の目的

樹状細胞の抗ウイルス応答をパターン認識からエフェクター細胞の誘導まで分子機構を含めて解明する。ウイルス感染のマウスモデルを使ってヒトの病原ウイルスの自然免疫活性化を解析する。樹状細胞が誘起する type I IFN、NK 細胞活性化、CTL 誘導をそれぞれの担当樹状細胞サブセットを同定して、エフェクターが誘起される分子機構の解明を目指す。

3. 研究の方法

ウイルスは種ごとに異なる感染応答を招来する。各論的な解析を取らざるを得ない。麻疹ウイルス (MV) のマウスモデルは当研究室で確立した (Shingai et al., J Immunol 2005)。ポリオウイルス (PV) モデルは小池博士 (都臨床機構) より供与を受けた。HCV のマウス肝細胞培養系は本研究で確立した (Aly et al., PLoS ONE 2011)。その他 VSV, SeV, influenza virus (PR8), などはマウス細胞に感染するので直接感染で調べた。これら Tg マウスに TICAM-1^{-/-}、IPS-1^{-/-}、IFNAR^{-/-}、IRF3/7^{-/-} などの KO マウスを交配し、抗ウイルスの樹状細胞応答を調べた。マウスは全て C57BL/6、液性、細胞性免疫の解析法は既に確立した方法 (Matsumoto et al., Meth Enzymol 2013) を用いた。

4. 研究成果

RNA ウイルスの感染宿主応答はマウスレベルで異なる IFN 誘導経路の活性化に依存することが判明した。

Picornavirus の PV は急性感染を起こし、TLR3-TICAM-1 経路に依存して感染が終息する。TICAM-1^{-/-} のマウス細胞はウイルス複製を許容し、100% 死亡する。IPS-1 経路の関与は低い。CD8a⁺ 樹状細胞の TICAM-1 経路が免疫応答の起動に重要である。少なくとも picorna=MDA5 という記載はマウス感染系では再現しない。

Flavivirus の HCV は IPS-1^{-/-}、または IFNAR^{-/-} の肝実質細胞で複製しうる。急性期に TICAM-1 は関与しない。Type I/III の IFN 誘導に肝細胞の IPS-1 経路が関与する。だが、感染肝細胞が exosome 形成によって CD8a⁺ 樹状細胞に取り込まれると CD8a⁺ 樹状細胞の RNA 応答が起きて NK 細胞の活性化と Th1 シフトが起きる。この応答は type III IFN 誘導では起きない。

Paramixovirus の MV は強力な免疫抑制を感染時に誘導する。IL-10 や Treg などが関与するとの報告がある。MV は樹状細胞を主な標的とする。しかし、既報にある MDA5/RIG-I (IPS-1 経路)、TLR3 (TICAM-1 経路) は in vivo の感染系で関係しなかった。最終的に TLR7/MyD88 経路が CD4⁺、plasmacytoid 樹状細胞で MV の RNA を認識して type I IFN を誘導する経路が in vivo での主要な抗ウイルス経路であることが判明した。BMDC ではこの経路は無く、IPS-1 経路であることも分かった。

ウイルスの IFN 経路への関与は IFN 抑制因子の産生も含めて複雑である。以上から言えることは、IFN 誘導経路は IRF-3 or 7 活性化に収束する系であるのに対し、RNA レセプターが複雑で複数あるのはウイルス種の多様性に宿主が対応した結果である。細胞性免疫の起動を担う代表的な樹状細胞は CD8a⁺ サブセットで、これはウイルス RNA を含む debris (exosome) を取り込み、endosome の TLR3 を活性化する仕組みを持つ。言い換えると TLR3 はウイルス RNA と細胞性免疫の架橋分子である。TLR3 の生理的意義は本研究のウイルス応答で明示された。

5. 主な発表論文等

(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)(全て査読有)

1. Okamoto M, Oshiumi H, Azuma M, Kato N, Matsumoto M, Seiya T. IPS-1 Is Essential for Type III IFN Production by Hepatocytes and Dendritic Cells in Response to Hepatitis C Virus Infection. **J Immunol**. 2014 Feb 14. [Epub ahead of print]
2. Tatematsu M, Seiya T, Matsumoto M. Beyond dsRNA: Toll-like receptor 3 signalling in RNA-induced immune responses. **Biochem J**. 2014 Mar 1;458(2):195-201.
3. Takaki H, Honda K, Atarashi K, Kobayashi F, Ebihara T, Oshiumi H, Matsumoto M, Shingai M, Seiya T. MAVS-dependent IRF3/7 bypass of interferon β -induction restricts the response to measles infection in CD150Tg mouse bone marrow-derived dendritic cells. **Mol Immunol**. 2014 Feb;57(2):100-10.
4. Shime H, Kojima A, Maruyama A, Saito Y, Oshiumi H, Matsumoto M, Seiya T. Myeloid-derived suppressor cells confer tumor-suppressive functions on natural killer cells via

- polyinosinic:polycytidylic acid treatment in mouse tumor models. **J Innate Immun.** 2014; 6: 293-305.
5. Tatematsu M, Seya T, Matsumoto M. Beyond dsRNA: Toll-like receptor 3 signalling in RNA-induced immune responses. **Biochem J.** 2014; 458(2): 195-201.
 6. Suzuki T, Oshiumi H, Miyashita M, Aly HH, Matsumoto M, Seya T. Cell type-specific subcellular localization of phospho-TBK1 in response to cytoplasmic viral DNA. **PLoS One.** 2013 Dec 9;8(12):e83639.
 7. Enokizono Y, Kumeta H, Funami K, Horiuchi M, Sarmiento J, Yamashita K, Standley DM, Matsumoto M, Seya T, Inagaki F. Structures and interface mapping of the TIR domain-containing adaptor molecules involved in interferon signaling. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2013 Dec 3;110(49):19908-13.
 8. Takaki H, Takeda M, Tahara M, Shingai M, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T. The MyD88 pathway in plasmacytoid and CD4+ dendritic cells primarily triggers type I IFN production against measles virus in a mouse infection model. **J Immunol.** 2013 Nov 1;191(9):4740-7.
 9. Oshiumi H, Miyashita M, Matsumoto M, Seya T. A distinct role of Riplet-mediated K63-Linked polyubiquitination of the RIG-I repressor domain in human antiviral innate immune responses. **PLoS Pathog.** 2013;9(8):e1003533.
 10. Tanaka Y, Suenaga T, Matsumoto M, Seya T, Arase H. Herpesvirus 6 glycoproteins B (gB), gH, gL, and gQ are necessary and sufficient for cell-to-cell fusion. **J Virol.** 2013 Oct;87(19):10900-3.
 11. Nishitsuji H, Funami K, Shimizu Y, Ujino S, Sugiyama K, Seya T, Takaku H, Shimotohno K. Hepatitis C virus infection induces inflammatory cytokines and chemokines mediated by the cross talk between hepatocytes and stellate cells. **J Virol.** 2013; 87: 8169-78.
 12. Tatematsu M, Nishikawa F, Seya T, Matsumoto M. Toll-like receptor 3 recognizes incomplete stem structures in single-stranded viral RNA. **Nat Commun.** 2013;4:1833.
 13. Seya T, Azuma M, Matsumoto M. Targeting TLR3 with no RIG-I/MDA5 activation is effective in immunotherapy for cancer. **Expert Opin Ther Targets.** 2013 May;17(5):533-44.
 14. Oshiumi H, Funami K, Aly HH, Matsumoto M, Seya T. Multi-step regulation of interferon induction by hepatitis C virus. **Arch Immunol Ther Exp (Warsz).** 2013 Apr;61(2):127-38.
 15. Matsumoto M, Funami K, Tatematsu M, Azuma M, Seya T. Assessment of the Toll-like receptor 3 pathway in endosomal signaling. **Methods Enzymol.** 2014;535:149-65.
 16. Toscano F, Estornes Y, Virard F, Garcia-Cattaneo A, Pierrot A, Vanbervliet B, Bonnin M, Ciancanelli MJ, Zhang SY, Funami K, Seya T, Matsumoto M, Pin JJ, Casanova JL, Renno T, Lebecque S. Cleaved/associated TLR3 represents the primary form of the signaling receptor. **J Immunol.** 2013 Jan 15;190(2):764-73.
 17. Shime H, M. Matsumoto, H. Oshiumi, S. Tanaka, A. Nakane, Y. Iwakura, H. Tahara, N. Inoue, and T. Seya. TLR3/TICAM-1 signaling converts tumor-supporting myeloid cells to tumoricidal effectors. **Proc Natl Acad Sci USA.** 2012. 109: 2066-2071.
 18. Abe, Y., K. Fujii, N. Nagata, O. Takeuchi, S. Akira, H. Oshiumi, M. Matsumoto, T. Seya, and S. Koike. Toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. **J Virol.** 2012. 86: 185-194.
 19. Yamazaki, S., A. Maruyama, K. Okada, M. Matsumoto, A. Morita, and T. Seya. Dendritic cells from oral cavity induce Foxp3+ regulatory T cells upon antigen stimulation. **PLoS ONE** 2012. 7:e51665.
 20. Miyashita, M., H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. The SKI2-related helicase DDX60 is a novel antiviral factor promoting RIG-I-like receptor-mediated signaling. **Molec. Cell. Biol.** 2011. 31: 3802-3819.

21. Ogawa, T., S. Tsuji-Kawahara, T. Yuasa, S. Kinoshita, T. Chikaishi, S. Takamura, H. Matsumura, T. Seya, T. Saga, and M. Miyazawa. Natural killer cells recognize Friend retrovirus infected erythroid progenitor cells through NKG2D-RAE-1 interactions in vivo. **J. Virol.** 2011. 85: 5423-5435.
22. Watanabe, A., M. Tatematsu, K. Saeki, S. Shibata, H. Shime, A. Yoshimura, C. Obuse, T. Seya, and M. Matsumoto. Raftlin is involved in the nucleocapture complex to induce poly(I:C)-mediated TLR3 activation. **J. Biol. Chem.** 2011. 86: 10702-10711.
23. Aly, H. H., H. Oshiumi, M. Matsumoto, K. Shimotohno, T. Wakita, and T. Seya. Establishing mouse hepatoma cell lines permissive to human hepatitis C virus. **PLoS ONE.** 2011. 6 (6): e21284.
24. Oshiumi, H., M. Okamoto, K. Fujii, T. Kawanishi, M. Matsumoto, S. Koike, and T. Seya. The TLR3-TICAM-1 pathway is mandatory for innate immune responses to poliovirus infection. **J. Immunol.** 2011. 187: 5320-5327
25. Hazeki, K., Y. Kametani, H. Murakami, M. Uehara, K. Nigorokawa, S. Takasuga, T. Sasaki, M. Matsumoto, T. Seya, and O. Hazeki. Phosphoinositide 3-kinaseγ controls the intracellular localization of CpG to limit DNA-PKcs-dependent IL-10 production in macrophages. **PLoS ONE.** 2011. 6(10): e26836.
26. Itoh, H., A. Watanabe, K. Iwano, K. Funami, T. Seya, and M. Matsumoto. UNC93B1 physically associates with human TLR8 and regulates TLR8-mediated signaling. **PLoS ONE.** 2011. 6(12): e28500.
27. Sancho-Shimizu, V., R. Pérez de Diego, L. Lorenzo, R. Halwani, A. Alangari, S. Fabrega, A. Cardon, J. Maluenda, M. Tatematsu, F. Mahvelati, M. Herman, M. Ciancanelli, Y. Guo, A. Ghadiri, S. Boucheriti, S. Plancoulaine, C. Picard, F. Rosenberg, M. Tardieu, P. Lebon, E. Jouanguy, T. Seya, M. Matsumoto, N. Rezeai, D. Chaussabel, A. Puel, L. Abel, S-Y. Zhang, S. Al-Muhsen, and J-L. Casanova. Human TRIF deficiency in otherwise healthy patients with herpes simplex encephalitis. **J. Clin. Invest.** 2011.121: 4889-4902.
28. Matsumoto, M., H. Oshiumi, and T. Seya. Antiviral responses induced by the TLR3 pathway. **Rev. Med. Virol.** 2011. 21: 67-77.
29. Wakita, T., T. Suzuki, M. J. Evans, K. Shimotohno, K. Chayama, Y. Matsuura, M. Hijikata, K. Moriishi, T. Seya, N. Enomoto, K. Koike, N. Kato, T. Kanto, and H. Hotta. Will there be an HCV meeting in 2020?: Summary of the 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. **Gastroenterology** 2011. 141: e1-5.
- 〔学会発表〕(計 0 件)
省略
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)
取得状況(計 0 件)
- 〔その他〕
HP: <http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20536/>
6. 研究組織
- (1)研究代表者
瀬谷 司 (SEYA TSUKASA)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 10301805
- (2)研究分担者
なし
- (3)連携研究者
松本 美佐子 (MISAKO MATSUMOTO)
北海道大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 30332456
- 押海 裕之 (HIROYUKI OSHIUMI)
北海道大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 50379103
- 志馬 寛明 (HIROAKI SHIME)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 70372133