

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293083

研究課題名(和文) 全身性エリトマトーデス発症におけるArl8bの役割

研究課題名(英文) A role of Arl8b for the development of SLE

研究代表者

齋藤 伸一郎 (Saitoh, Shin-Ichiroh)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：90361625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：低分子量G蛋白質Arl8bがウイルスや細菌のRNA成分を認識するToll-like Receptor 7 (TLR7)と会合し、TLR7の機能を制御していることを明らかにした。そして全身性エリトマトーデス(SLE)のマウスモデルBXSb.Yaa、MRL/lprとTMPD投与によるSLEの発症においてArl8bの重要な役割を明らかにした。これはArl8bが形質細胞様樹状細胞(pDC)においてTLR7依存的に産生されるtype 1 Interferonの産生に関わることと関係がある。さらにMRL/lprマウスにおいてはArl8bが制御性T細胞を調節してSLEの発症に関わっていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：lysosomal small G protein Arl8b is associated with Toll-like Receptor 7 (TLR7), which is an RNA sensor recognizing viral or bacterial RNA in endosome or lysosome. We clarified that Arl8b is essential for the development of Systemic lupus erythematosus (SLE) in TLR7 and type 1 Interferon dependent SLE mouse models, BXSb.Yaa and TMPD-induced SLE. We reported that Arl8b plays an important role for TLR7 dependent type 1 Interferon expression in pDC. We also analyzed another type of SLE model, MRL/lpr. It is not TLR7 and type 1 dependent SLE model so much. We found that Arl8b is also essential for the development of SLE in TLR7 and type 1 Interferon independent mechanism in MRL/lpr. Arl8b controls regulatory T cells and the development of SLE in this model.

研究分野：炎症免疫学

キーワード：全身性エリトマトーデス Arl8b 自己免疫疾患 形質細胞様樹状細胞 Toll-like Receptor 7

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(SLE)のマウスモデル BXSB.Yaa マウスや TMPD 投与による SLE 誘導モデルにおいて Toll-like Receptor7(TLR7)が SLE の発症に重要な役割を果たしていることが報告されていた。我々は TLR7 に特異的に会合して TLR7 の反応を制御する低分子量 G 蛋白質の Arl8b を同定した。Arl8b の発現を無くする遺伝子変異マウスの形質細胞様樹状細胞 (pDC) において TLR7 を刺激すると、1 型インターフェロン産生が著しく抑制された。そのため、1 型インターフェロンが重要な役割を果たす SLE の発症モデルを解析して Arl8b の役割を検討した。

2. 研究の目的

TLR7 に会合する低分子量 G 蛋白質 Arl8b が SLE の発症に関わっているのかを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

MRL/lpr, BXSB.Yaa と TMPD 投与による SLE の誘導モデルの 3 種類の SLE 発症モデルを用いて Arl8b 遺伝子欠損マウス Arl8b Gt/Gt と交配して MRL/lpr Arl8bGt/Gt, BXSB.Yaa Arl8bGt/Gt, TMPD 投与による SLE 誘導モデルに使用するため BALB/c Arl8bGt/Gt マウスを作製した。それぞれ 12 回以上戻し交配後に SLE の発症実験を行った。血清の抗体価、血清の生化学検査、脾臓やリンパ節の重量検査、FACS 解析、抗核酸抗体の検査を行った。

4. 研究成果

3 種類全ての SLE 発症モデルにおいて Arl8bGt/Gt マウスの著しい発症の抑制が認められた。とくに BXSB.Yaa マウスにおいては Arl8bGt/Gt マウスは Yaa を持たない正常なマウスと全く変わらないことが明らかとなり、SLE の発症における Arl8b の役割が非常に重要なものであることが示唆された。さらに MRL/lpr マウスにおいてはコントロールマウスに比べて Arl8bGt/Gt マウスで制御性 T 細胞の増強が確認された。

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 12 件)

- 1 Saitoh, S. I., Abe, F., Kanno, A., Tanimura, N., Mori Saitoh, Y., Fukui, R., Shibata, T., Sato, K., Ichinohe, T., Hayashi, M., Kubota, K., Kozuka-Hata, H., Oyama, M., Kikko, Y., Katada, T., Kontani, K., and Miyake, K. 2017. TLR7

mediated viral recognition results in focal type I interferon secretion by dendritic cells. *Nat Commun* 8:1592-1604.

- 2 Murakami, Y., Fukui, R., Motoi, Y., Shibata, T., Saitoh, S. I., Sato, R., and Miyake, K. 2017. The protective effect of the anti-Toll-like receptor 9 antibody against acute cytokine storm caused by immunostimulatory DNA. *Sci Rep* 7:44042.
- 3 Cuccioloni, M., Mozzicafreddo, M., Bonfili, L., Cecarini, V., Giangrossi, M., Falconi, M., Saitoh, S. I., Eleuteri, A. M., and Angeletti, M. 2017. Interfering with the high-affinity interaction between wheat amylase trypsin inhibitor CM3 and toll-like receptor 4: in silico and biosensor-based studies. *Sci Rep* 7:13169-13178.
- 4 Iijima, J., Kobayashi, S., Kitazume, S., Kizuka, Y., Fujinawa, R., Korekane, H., Shibata, T., Saitoh, S. I., Akashi-Takamura, S., Miyake, K., Miyoshi, E., and Taniguchi, N. 2017. Core fucose is critical for CD14-dependent Toll-like receptor 4 signaling. *Glycobiology* 27:1006.
- 5 Oka, M., Hashimoto, K., Yamaguchi, Y., Saitoh, S. I., Sugiura, Y., Motoi, Y., Honda, K., Kikko, Y., Ohata, S., Suematsu, M., Miura, M., Miyake, K., Katada, T., and Kontani, K. 2017. Arl8b is required for lysosomal degradation of maternal proteins in the visceral yolk sac endoderm of mouse embryos. *J Cell Sci.* 130:3568-3577.

- 6 Kanno, A., Tanimura, N., Ishizaki, M., Ohko, K., Motoi, Y., Onji, M., Fukui, R., Shimozato, T., Yamamoto, K., Shibata, T., Sano, S., Sugahara-Tobinai, A., Takai, T., Ohto, U., Shimizu, T., Saitoh, S., and Miyake, K. 2015. Targeting cell surface TLR7 for therapeutic intervention in autoimmune diseases. *Nat Commun* 6:6119-6130.
- 7 Li, X., Saitoh, S., Shibata, T., Tanimura, N., Fukui, R., and Miyake, K. 2015. Mucolipin 1 positively regulates TLR7 responses in dendritic cells by facilitating RNA transportation to lysosomes. *Int Immunol* 27:83-94. First and second authors contributed equally to this study.
- 8 Kimura, T., Endo, S., Inui, M., Saitoh, S., Miyake, K., and Takai, T. 2015. Endoplasmic Protein Nogo-B (RTN4-B) Interacts with GRAMD4 and Regulates TLR9-Mediated Innate Immune Responses. *J Immunol* 194:5426-5436.
- 9 Chan, M. P., Onji, M., Fukui, R., Kawane, K., Shibata, T., Saitoh, S., Ohto, U., Shimizu, T., Barber, G. N., and Miyake, K. 2015. DNase II-dependent DNA digestion is required for DNA sensing by TLR9. *Nat Commun* 6:5853-5865.
- 10 Murakami, Y., Fukui, R., Motoi, Y., Kanno, A., Shibata, T., Tanimura, N., Saitoh, S., and Miyake, K. 2014. Roles of the cleaved N-terminal TLR3 fragment and cell surface TLR3 in double-stranded RNA sensing. *J Immunol* 193:5208-5217.
- 11 Tanimura, N., Saitoh, S., Ohto, U., Akashi-Takamura, S., Fujimoto, Y., Fukase, K., Shimizu, T., and Miyake, K. 2014. The attenuated inflammation of MPL is due to the lack of CD14-dependent tight dimerization of the TLR4/MD2 complex at the plasma membrane. *Int Immunol* 26:307-314.
- 12 齋藤伸一郎 2017年 Toll-like receptor 7が1型インターフェロンを産生するにはLFA-1が重要な役割を果たしている エンドトキシン・自然免疫研究 20, 54-56 医学図書出版
- 〔学会発表〕(計 5 件)
Shin-Ichiroh Saitoh, Yoshiko Mori Saitoh, Katsuaki Sato, Kenji Kontani, and Kensuke Miyake、ADP-ribosylation factor-like 8b is required for the pathogenesis of mouse models of Systemic Lupus Erythematosus. 第46回日本免疫学会学術集会・宮城県仙台市、2017年12月13日
- 齋藤伸一郎、Arl8bは全身性エリテマトーデスモデルマウスBXSB.Yaaの病気の発症に関わっている。第23回日本エンドトキシン・自然免疫研究会・西宮市、最優秀賞受賞講演、2017年12月2日
- 齋藤伸一郎、Metabolic permission for IFN α induction is connected by Toll-like Receptor 7 trafficking, 第45回日本免疫学会学術集会、2016年12月7日、沖縄県宜野湾市、日本
- 齋藤伸一郎、三宅健介、Toll-like receptor 7の移動は代謝センサーmTorC1による1型インターフェロン産生の制御と結びつい

ている。第22回日本エンドトキシン・自然免疫研究会、2016年12月3日、鹿児島市

Shin-Ichiroh Saitoh, Ryutaro Fukui,
Atsuo Kanno, Masahiro Onji, Takuma
Shibata, Katsuaki Sato, & Kensuke
Miyake The Arf-like GTPase Arl8b drives
TLR7 into type I interferon-mediated
autoimmunity 第43回日本免疫学会学術集
会・京都市、2014年12月10-12日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
東京大学医科学研究所感染遺伝学分野
([http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/kansenid
en/index.html](http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/kansenid
en/index.html))

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 伸一郎 (Saitoh, Shin-Ichiroh)
東京大学・医科学研究所・准教授
研究者番号：90361625

(2) 研究分担者

(0)

研究者番号：

(3) 連携研究者

(0)

研究者番号：

(4) 研究協力者

(0)