

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21117001

研究課題名(和文)内因性リガンドによって誘導される「自然炎症」の分子基盤とその破綻

研究課題名(英文)Homeostatic inflammation: Molecular basis and dysregulation

研究代表者

三宅 健介(MIYAKE, Kensuke)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：60229812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 144,600,000円、(間接経費) 43,380,000円

研究成果の概要(和文)：ハエからヒトまで保存されている病原体センサーは、病原体を認識する一方、自己成分(内因性リガンド)にも応答しうる。健常時から病態まで、内因性リガンドと病原体センサーとの相互作用(自然炎症)についての解析を領域で進めた。その解析に必要な遺伝子改変マウスの作成、病原体センサーに対する抗体の作成を進めた。さらには、それぞれの計画班の遺伝子改変マウスの解析、ハエの解析を支援した。これらの活動を通して、領域内の研究の推進に貢献した。

研究成果の概要(英文)：Pathogen sensors, which are conserved from flies to humans, senses not only microbial products but also self-derived products (endogenous ligands). The grant project called Homeostatic Inflammation has focused on interaction between pathogen sensors and endogenous ligands from the healthy state to the disease state. This grant contributed to the project by generating genetically engineered mice and monoclonal antibodies to pathogen sensors, and by supporting analyses of mutant mice and flies.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医科学、免疫学

キーワード：自然免疫 Toll様受容体

1. 研究開始当初の背景

遺伝子改変マウスの作成、供給、解析の支援、モノクローナル抗体の作成、変異ショウジョウバエの解析支援は自然炎症領域の研究の推進に大きく影響する。そこで、総括班において、必要な人員を措置して、支援業務を進めることとした。また、同時に、領域内の交流を図ることも重要である。班会議、シンポジウムの企画、運営、ホームページを活用して、領域内の共同研究の推進も図る。これらの活動を通して、領域の研究の推進を支援するために、総括班が設けられた。

2. 研究の目的

ショウジョウバエからヒトまで保存されている病原体センサーは、病原体を特異的に認識し、自己成分には認識しないと考えられてきたが、病原体センサーの認識機構の解明が進むにつれ、自己由来内因性リガンドにも応答し、恒常的な炎症反応(自然炎症)を誘導している可能性が明らかになりつつある。従来、炎症あるいは組織障害時においてのみ内因性リガンド・病原体センサー相互作用は、検討されてきたが、健常時でも代謝産物と病原体センサーの相互作用が機能しており、この全貌を理解するうえで、健常時から組織障害時まで不連続ではなく連続的なものとして理解する必要があると考えて、本領域では自然炎症という概念を提唱する。ショウジョウバエ遺伝学、マウス免疫学、ヒト臨床内科学の、3分野を自然炎症という概念で有機的に関連させて学際的な研究を展開し、自然炎症という新たな視点から非感染性慢性炎症疾患の本質を明らかにすることが本領域提案の狙いである。本総括班では、領域内の有機的連携を図りつつ、研究領域の方針の策定、研究支援等を行い、領域の発展に資することを目的とする。

3. 研究の方法

【研究支援】

遺伝子改変マウス、ショウジョウバエの作成、遺伝子改変マウスを用いた抗体作成を行い、研究支援するシステムを、東京大学、大阪大学、東北大学に置く。

【バーチャル討論室】

インターネットを活用し、班員間で自由に意見や情報交換ができるバーチャル討論室を開設し、real-timeでの活発な討論を促進する。

【班会議】

班会議では、研究の進捗状況を調査するとともに、共同研究を含めた研究推進に関して討論し、必要な施策を講ずる。また、研究協力者に評価を受けるとともに、領域の方向性について積極的に助言を求める。

【公開シンポジウム】

毎年度公開シンポジウムを開催し、各班の研究計画、成果について発表し、お互いに評価、討論を進める。4年目に国際シンポジウムを

企画し、積極的に研究成果を国際的に発信する。領域代表者が会長に内定している国際エンドトキシン自然免疫学会学術集会の開催が日本で予定されており、領域のシンポジウムをJointで開催する。学会活動を通して、自然炎症という概念を国際的にも認知されるように努める。合宿形式のワークショップも開催し、若手研究者の育成を図る。

【広報活動】

ホームページや、ニュースレターにより、意見交換と相互理解を進める。市民講座の開催や出前講義などのアウトリーチ活動にも積極的に取り組む。

【研究成果とりまとめ】

研究終了時には、研究成果をとりまとめ、最終報告書を提出する。

4. 研究成果

【研究支援】

総括班では、本領域の研究推進に寄与する遺伝子改変マウス及びモノクローナル抗体の作成を研究支援とし、29の遺伝子改変マウスが作成中または作成終了しており、修了したものについては、計画班へ随時供給した。モノクローナル抗体についても、マウスTLR3、TLR6、TLR7、TLR9に対するモノクローナル抗体を樹立済みであり、以前に確立したものを合わせると、マウスのTLRのほぼすべてに対する抗体の作成に成功している。これらの抗体は、TLRの発現・機能解析に貢献している。詳細は以下の通りである。

ターゲティングベクター構築中あるいは購入予定：2/29

ターゲティングベクター構築済：4/29

ES細胞の相同組み換え株取得済：11/29

キメラマウス作成済：2/29

Germline transmission済：10/29

モノクローナル抗体：TLR3(clone;Pat3)、TLR6(clone;C1N2)、TLR7(clone;A94B10)、TLR9(clone;J15)

【バーチャル討論室】

論文や、学会発表などについて活発な討論を行った。

【班会議】

総括班会議は、計14回開催した。また、領域班会議は計4回開催した。

【公開シンポジウム】

シンポジウムとしては、自然炎症シンポジウム、第82回日本生化学会シンポジウムを開催した。国際シンポジウムとしては、自然炎症国際シンポジウムを2回、開催した。第2回自然炎症国際シンポジウムは、国際エンドトキシン自然免疫学会、日本エンドトキシン自然免疫研究会との共催であった。さらに、若手ワークショップを2回開催した。これらのシンポジウムを通して、自然炎症の概念、研究成果を発信した。

【広報活動】

ホームページを活用して、領域の活動を発信した。また、アウトリーチ活動としては、テ

テレビ出演、新書の出版、また、20回を超える
出前講義やラボ見学などを行った。

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7件)

1. Huh JW, Shibata T, Hwang M, Kwon EH, Jang MS, Fukui R, Kanno K, Jung DJ, Jang MH, Miyake K, and Kim YM (co-corresponding author) UNC93B1 is essential for the plasma membrane localization and signaling of Toll-like receptor 5 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014, doi:10.1073/pnas.1322838111
2. Onji M, Kanno A, Saitoh S, Fukui R, Motoi Y, Shibata T, Matsumoto F, Lamichhane A, Sato S, Kiyono H, Yamamoto K, Miyake K. An essential role for the N-terminal fragment of Toll-like receptor 9 in DNA sensing. *Nat. Commun.* 2013;4:1949. doi: 10.1038/ncomms2949.
3. Kanno A, Yamamoto C, Onji M, Fukui R, Saitoh SI, Motoi Y, Shibata T, Matsumoto F, Muta T, Miyake K. Essential role for Toll-like receptor 7 (TLR7)-unique cysteines in intramolecular disulfide bond, proteolytic cleavage, and RNA-sensing. *Int Immunol.* 2013, 25:413-422. doi: 10.1093/intimm/dxt007
4. Okuma A, Hoshino K, Ohba T, Fukushi S, Aiba S, Akira S, Ono M, Kaisho T, Muta T. Enhanced apoptosis by disruption of the STAT3-I κ B- ζ signaling pathway in epithelial cells induces Sjögren's syndrome-like autoimmune disease. *Immunity.* 2013 38:450-460. doi: 10.1016/j.immuni.2012.11.016.
5. Shibata T, Takemura N, Motoi Y, Goto Y, Karuppuchamy T, Izawa K, Li X, Akashi-Takamura S, Tanimura N, Kunisawa J, Kiyono H, Akira S, Kitamura T, Kitaura J, Uematsu S, Miyake K. PRAT4A-dependent expression of cell surface TLR5 on neutrophils, classical monocytes and dendritic cells. *Int Immunol.* 2012 24: 613-623. doi: 10.1093/intimm/dxs068
6. Sasaki, K. Hoshino, T. Sugiyama, C. Yamazaki, T. Yano, A. Iizuka, H. Hemmi, T. Tanaka, M. Saito, M. Sugiyama, Y. Fukuda, T. Ohta, K. Sato, A. Aina, T. Suzuki, H. Hasegawa, N.

Toyama-Sorimachi, H. Kohara, T. Nagasawa, T. Kaisho. 2012. Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. *Blood* 120:4733-4743. doi: 10.1182/blood-2012-06-436527

7. Kikuchi, H., Sekiya, M., Katou, Y., Ueda, K., Kabeya, T., Kurata, S., and Oshima, Y.: Revised Structure and Synthesis of Celastramycin A, a Potent Innate Immune Suppressor. *Organic letters* 11, 1693-1695, 2009. DOI: 10.1021/ol2018449

[学会発表](計12件)

1. An Essential role for the N-terminal fragment of Toll-like receptor 9. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2013 December 12, Chiba, Japan
2. Cell surface TLR3 on CD8-positive dendritic cells and an essential role of the cleaved N-fragment of TLR3 ectodomain in polyI:C sensing. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2013 December 12, Chiba, Japan
3. Single Stranded RNA adjusts the TLR7/8 response to agonistic base analogues. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2013 December 12, Chiba, Japan
4. Essential role for Toll-like receptor 7 (TLR7)-unique cysteines in an intramolecular disulfide bond, proteolytic cleavage and RNA sensing. The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research (JSICR) and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology (MMCB), 2013 May 21, Tokyo, Japan
5. Differential requirements of CD14 and Lipopolysaccharide binding protein in Monophosphoryl lipid A- mediated TLR4 activation. American Associate of Immunology, Annual meeting, 2013 May 5, Honolulu, USA
6. A GTPase driving TLR7 into type I interferon-mediated autoimmunity. The 12th Biennial International Endotoxin & Innate Immunity Society(IEIIS) meeting, 2012 October 23, Tokyo, Japan
7. Monophosphoryl lipid A activates TLR4 via LPS-Binding Protein-dependent and CD14-independent fashions. The 12th Biennial International Endotoxin & Innate Immunity Society(IEIIS) meeting, 2012 October 23, Tokyo, Japan
8. PRAT4A-dependent expression of cell surface TLR5 on neutrophils, classical

- monocytes and dendritic cells. The 12th Biennial International Endotoxin & Innate Immunity Society(IEIIS) meeting, 2012 October 23, Tokyo, Japan
9. Cell surface TLR1, 2 and 6 showed variety expression patterns but all depends on PRAT4a completely. The 12th Biennial International Endotoxin & Innate Immunity Society(IEIIS) meeting, 2012 October 23, Tokyo, Japan
 10. Roles for proteolytic cleavage of TLR9 in primary immune cells. The 12th Biennial International Endotoxin & Innate Immunity Society(IEIIS) meeting, 2012 October 23, Tokyo, Japan
 11. Detecting endogenous mouse TLR7 by a monoclonal antibody. The 12th Biennial International Endotoxin & Innate Immunity Society(IEIIS) meeting, 2012 October 23, Tokyo, Japan
 12. Arf-like GTPase Arl8b drives TLR7 into type I interferon-mediated autoimmunity. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2012 December 5, Hyogo, Japan

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：炎症性疾患の予防又は治療剤
発明者：三宅健介、菅野敦夫、恩地正浩、本井祐二
権利者：東京大学
種類：特許
番号：特願 2013-089575
出願年月日：平成 25 年 4 月 22 日
国内外の別：国内、国外は PCT 出願

取得状況(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：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.shizen-enshow.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

三宅 健介 (MIYAKE, Kensuke)
東京大学・医科学研究所・教授
研究者番号：60229812

(2)研究分担者

改正 恒康 (KAISHO, Tsuneyasu)
大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授
研究者番号：60224325

(3)研究分担者

牟田 達史 (MUTA, Tatsushi)
東北大学・理学系研究科・教授
研究者番号：60222337

(4)研究分担者

倉田 祥一郎 (KURATA, Shoichiro)
東北大学・薬学系研究科・教授
研究者番号：90221944

(5)研究分担者

倉永 英里奈 (KURANAGA, Erina)
理化学研究所・発生・再生科学総合研究センター・チームリーダー
研究者番号：90376591

(6)連携研究者

小川 佳宏 (OGAWA, Yoshihiro)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：70291424

(7)連携研究者

丸 義朗 (MARU, Yoshiro)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：00251447