

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19059011

研究課題名（和文） 自然免疫系の自己識別における役割

研究課題名（英文） Role of innate immunity in recognition of immunological self

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) パターン認識受容体を介した自己の識別による自然免疫系の活性化を制御する分子機構を、特に核に発現する I $\kappa$ B 分子群に標的を絞り明らかにする。I $\kappa$ B 分子群が選択的に遺伝子発現を正負に制御する分子機構を明らかにし、自己認識から自然免疫系が活性化される分子機構を明らかにする。

(2) 腸管には本来非自己である腸内細菌が共生していて、免疫系に種々の影響を与えている。この腸内細菌の識別による腸管自然免疫系の作動機構を解析する。

#### 2. 研究の進捗状況

(1) マクロファージにおいて、TLR 刺激による NF- $\kappa$ 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 誘導性遺伝子産物である核内因子 I $\kappa$ B $\zeta$  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。

(2) また、自然免疫細胞の異常活性化が腸内細菌依存性に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<sup>high</sup>CD11b<sup>high</sup> 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、2. に記載したような成果を挙げることができたと考えられる。

#### 4. 今後の研究の推進方策

下記に示す二つの研究プロジェクトを推進していく予定である。

「(1) TLR 依存性の遺伝子発現の制御機構の解析」遅期型の遺伝子発現誘導に関わる I $\kappa$ B $\zeta$  が、いかなる機構で遺伝子発現を制御しているかを明らかにするため、I $\kappa$ B $\zeta$  に会合する分子を酵母 two-hybrid システムや免疫沈降法により同定する。その中で、遅期型の遺伝子発現誘導に関わる分子を、マクロファージ細胞株への過剰発現による、TLR 応答性の変化の解析などの実験を行い、明らかにする。さらに細胞レベルでの解析により、同定された候補分子の遺伝子欠損マウスを作製し、その生理的意義を、特に TLR 依存性の自然免疫応答の観点から明らかにする。

「(2) 共生細菌の識別による腸管特有自然免疫系細胞の活性制御機構の解析」これまでに、腸内細菌依存性に Th17 細胞分化を誘導する腸管特有の自然免疫系細胞を同定した。腸管粘膜固有層には、まだ機能が不明の特有の自

然免疫系細胞が存在している。そこで、腸管粘膜固有層の細胞を CD11b, CD11c, CD70, CX3CR1 など各種細胞表面マーカーで染色し、各サブセットを flow cytometry で単離し、脾臓由来の CD4 陽性 T 細胞と共培養し、Th1/Th2/Th17/Treg への分化誘導能、さらに増殖誘導・抑制能を指標に、新規自然免疫系細胞サブセットの同定を行う。そして、これら新規自然免疫系細胞サブセットの腸内細菌による活性誘導機構を、種々の腸内細菌により刺激、誘導される遺伝子の解析から明らかにする。さらに、これら細胞が個体レベルでどのような役割を担っているのかを解析するため、この細胞を腸管粘膜固有層から単離し、免疫不全マウスへのナイーブ T 細胞移入による腸管炎症誘導モデルに移入することにより、腸管炎症の抑制・促進に関わるかを解析する。また、この細胞の T 細胞の機能調節の分子機構を解析する。これらの解析により、自然免疫系の自己識別、さらには本来非自己である腸内細菌の識別による、免疫系の活性化制御機構を明らかにする。

#### 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 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)
- ③ Kayama, H., Ramirez-Carrozzi, V. R., Yamamoto, M., Mizutani, T., Kuwata, H., Iba, H., Matsumoto, M., Honda, K., \*Smale, S. T., and Takeda, K.: Class-specific regulation of pro-inflammatory genes by MyD88 pathways and I $\kappa$ B $\zeta$ . *J. Biol. Chem.* 283, 12468-12477, 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>