

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15253

研究課題名(和文) Arl8bによる制御性T細胞の調節機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of regulatory mechanism for regulatory T cells by Arl8b

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) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：低分子量G蛋白質であるArl8bがTLR7と会合してTLR7の働きを制御していることを明らかにした。そのことからSLEのモデルマウスMRL/lprのSLE発症におけるArl8bの役割を検討したところ、SLEの発症にArl8bが重要な役割を果たしていることが明らかとなった。MRL/lprのSLE発症がTLR7にあまり依存しないため詳細に解析をすると、脾臓細胞における制御性T細胞の増強が確認された。そしてT細胞におけるIL-2受容体の発現がArl8bの欠損マウスにおいて増強していた。Arl8bとIL-2受容体の関係についてより解析し、Arl8bが制御性T細胞を制御する機構について解明する。

研究成果の概要(英文)：I revealed that a small G protein Arl8b is associated with TLR7 and regulates TLR7 function. So, I analyzed several SLE mouse models. In some SLE mouse models, I analyzed the role of Arl8b on MRL/lpr mouse model. I observed that Arl8b plays an essential role for the development of SLE in this model. Because MRL/lpr mouse model is not much dependent on TLR7 function, I analyzed carefully TLR7 independent mechanism. I observed that regulatory T cells significantly increased in spleen of MRL/lpr Arl8b deficient mice compared with MRL/lpr wild type mice. IL-2 controls regulatory T cells. I observed IL-2 receptor expression level in spleen of MRL/lpr Arl8b deficient mouse. I found that IL-2 receptor expression level is significantly high on MRL/lpr Arl8b deficient T cells. I will analyze the role of Arl8b for IL-2 receptor expression and controlling regulatory T cell.

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 Toll-like receptor 7 自己免疫疾患 Arl8b

### 1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(SLE)のマウスモデルにおいて SLE の発症に TLR7 が重要な役割を果たしていることが報告されている。我々は TLR7 に特異的に会合する低分子量 G 蛋白質 Arl8b を同定した。そして Arl8b の遺伝子発現を欠損させたマウス Arl8bGt/Gt マウス由来の形質細胞様樹状細胞(pDC)において TLR7 刺激後の 1 型インターフェロン産生が著しく抑制された。このことから 1 型インターフェロン産生が関係している SLE の発症における Arl8b の役割に関して研究を行った。そして SLE のモデルマウス MRL/lpr において Arl8bGt/Gt で発症が著しく抑制されていた。

### 2. 研究の目的

Arl8b 遺伝子発現を欠損させた Arl8bGt/Gt マウスにおいて、SLE のモデルマウス MRL/lpr マウスと交配させると SLE の発症が著しく抑制されていた。その原因を調べると制御性 T 細胞の割合がコントロールに比べて高いことによる可能性が出てきた。そこでどのように Arl8b が制御性 T 細胞を調節しているのかを検討することが目的である。

### 3. 研究の方法

MRL/lpr マウスで野生型のマウス(SLE 発症マウス)と Arl8bGt/Gt マウスについて制御性 T 細胞の割合を検討した。すると統計的に Arl8bGt/Gt マウスで優位に脾臓細胞における制御性 T 細胞の割合が増加していることを確認した。脾臓細胞をフローサイトメトリーを用いて CD4 と CD25 の細胞表面染色後に、細胞膜に穴をあけて制御性 T 細胞の転写因子 Foxp3 を染色した。さらに制御性 T 細胞とかわりのある IL-2 受容体の染色をして解析を行った。そして Arl8bGt/Gt では IL-2 受容体の発現が増強していたので IL-2 受容体の発現を絞って免疫沈降を行い Arl8b が会合しているのかを解析する。

### 4. 研究成果

MRL/lpr マウスにおいて Arl8b が制御性 T 細胞の減少に関係していることが示唆された。それは IL-2 受容体の細胞表面発現の制御による可能性が指摘された。実際に IL-2 受容体に Arl8b が直接会合して制御しているのかどうかは更なる検討が必要である。

### 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 Kusumoto, Y., Okuyama, H., Shibata, T., Konno, K., Takemoto, Y., Maekawa, D., Kononaga, T.,

Ishii, T., Akashi-Takamura, S., Saitoh, S. I., Ikebuchi, R., Moriya, T., Ueda, M., Miyake, K., Ono, S., and Tomura, M. 2018. Epithelial membrane protein 3 (Emp3) downregulates induction and function of cytotoxic T lymphocytes by macrophages via TNF- $\alpha$  production. *Cell Immunol* 324:33. Impact Factor: 3.172

- 2 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. Impact Factor: 12.124

- 3 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. Impact Factor: 4.259

- 4 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. Impact Factor: 4.259
- 5 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.
- 6 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.
- 7 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 4 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 $\alpha$  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

〔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>)

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 )