

平成 22 年 4 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007 ～ 2010

課題番号：19209037

研究課題名（和文）自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症の感染防御障害機構

研究課題名（英文）The mechanisms for the deterioration of infection control in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED)

研究代表者

永淵 正法（NAGAFUCHI SEIHO）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：00150441

研究代表者の専門分野：内科学、感染症免疫学、ウイルス学、糖尿病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・細膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：感染症学

## 1. 研究計画の概要

自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症の責任遺伝子 AIRE の発現制御メカニズムとその機能を明らかにするために以下のテーマで研究を推進している。

- (1) AIRE の発現制御機構を、明らかにする。
- (2) AIRE が相互作用・制御している未知の蛋白あるいは標的遺伝子を探索同定する。
- (3) AIRE の機能を明らかにする。特にカンジダ感染防御障害については Aire K0 マウスを用いた解析を行う。

## 2. 研究の進捗状況

## (1) AIRE の発現制御機構

既に、MAPK経路に加えてTNF経路の重要性は明らかにしてきたが、最近、CD4+T細胞に強く発現し、AIRE蛋白制御に関与していることが推定されるmiRNAを同定した。このmiRNAの意義についてさらに検討を進めている。

## (2) AIRE が相互作用・制御している未知の蛋白あるいは標的遺伝子の探索

最近ようやくWestern blottingが安定して遂行できるようになってきた。興味深いことにAIRE蛋白は全長の他に、フラグメントとして作用している可能性が示唆されてきた。現在、フラグメント蛋白は真にAIRE蛋白フラグメントであるかどうかを検討中である。

## (3) AIRE の機能を明らかにする。

B細胞におけるAIRE蛋白は抗原提示に関与していることが示唆されてきた。前述のwestern blottingの進展により、相互作用する蛋白、標的遺伝子が同定できる準備が整っ

て来た。カンジダ感染ではAire K0 マウスが感受性亢進であることを示すカンジダの感染条件を確定することができた。

## 3. 現在までの達成度

Western blottingの完成にやや手間だったが、最近、急速に進展してきた。機能解析については、患者と健常人のEBウイルスとランスフォームB細胞をマイクロアレイを用いて比較検討し、候補となった遺伝子について、それぞれの細胞での遺伝子発現、細胞表面蛋白をFACSで検討することにより、その機能の一部を明らかにできている。カンジダ感染ではAire K0 マウスが感受性亢進であることを確認できたので、これから、その機能的な解析を行う予定である。

一方、AIREの遺伝子発現後の蛋白翻訳レベルを調節するこれまでに報告されていないmicroRNAの有力な候補を発見した。全体としての達成度は65%レベルと考えている。

## 4. 今後の研究の推進方策

Aire K0 マウスがカンジダに感受性亢進であることを確認できたので、これから、その機能的な解析を特にTH17 応答に焦点を充てながら行う予定である。

Western blottingの技術的完成にやや手間だったが、最近、急速に進展してきたため、これから相互作用蛋白、標的遺伝子探索研究の急速な進展が期待できる。また、AIREの遺伝子発現後の蛋白翻訳レベルを調節するこれま

で報告されていない microRNA の有力な候補を発見したので、この研究も推進し、新たな展開があるものと期待している。

#### 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3件)

1. Nagafuchi, S., Katsuta, H., and Anzai, K. Rituximab, B-lymphocyte depletion, and Beta-cell function. *N Engl J Med* 362, 761, 2010.

2. Nagafuchi S, Umene K, Yamanaka F, Oohashi S, Sinndo M, Kurisasi H, Kudoh J, Shimizu N, Hara T, Harada M. Recurrent herpes simplex virus infection in a patient with autoimmune polyendocrinopathy candidiasis ectodermal dystrophy associated with L29P and IVS9-1G>C compound heterozygous autoimmune regulator gene mutations *J Intern Med* 261:605-610, 2007.

3. 永淵正法, 栗崎宏憲. 特異な自己免疫病 APECED (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis ectodermal dystrophy) の責任遺伝子 AIRE. *感染・炎症・免疫* 37:88-91, 2007.

[学会発表](計12件)

1. 野口由樹子、松尾友仁、進藤美恵子、小田淑恵、栗崎宏憲、永淵正法. 自己免疫調節 (Autoimmune Regulator:AIRE) 遺伝子の AIRE 遺伝子導入細胞と T 細胞における発現制御機構. 83 回日本感染症学会総会.平成 22 年 4 月 5-6 日.京都市.

2. 栗崎宏憲、藤本秀士、光山正雄、永淵正法. Aire 欠損マウスを用いた *Candida albicans* の感染防御機構の解析 第 83 回日本感染症学会総会. 東京都. 平成 21 年 4 月 24 日.東京都.

3. Matsuo T, Noguchi Y, Nagao Y, Shindo M, Kogawa K, Iwakiri R, Akashi 2, Hara T, Kudoh J, Shimizu N, Kurisasi H, Katsuta H, Anzai K, Nagafuchi S. The significance of B cells in the pathogenesis of type 1 diabetes and a possible role of AIRE gene. The 69<sup>th</sup> annual meeting of American Diabetes Association Scientific Sessions, 5-9, June, 2009. New Orleans.

4. 松尾友仁、進藤美恵子、小川秀一郎、栗崎宏憲、永淵正法. 「自己調節遺伝子 AIRE (Autoimmune Regulator) の EBV transformed B cell における発現制御とその

意義」. 第 82 回日本感染症学会総会.平成 20 年 4 月 17-18 日.松江市.

5. 栗崎宏憲、松尾友仁、進藤美恵子、小川秀一郎、藤本秀士、光山正雄、永淵正法. Aire 欠損マウスを用いた自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症の感染防御障害機構の解析.第 82 回日本感染症学会総会.平成 20 年 4 月 17-18 日.松江市.

6. 松尾友仁、吉田英子、進藤美恵子、濱田寛子、河野弥季、小川秀一郎、内野由梨、栗崎宏憲、永淵正法. アフィニティカラム精製抗 AIRE ペプチド抗体をもちいた蛋白の発現解析. 第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会.平成 20 年 5 月 22-24 日.東京.

7. Seiho Nagafuchi, Hironori Kurisasi, Tomohito Matuso, Hiroko Hamada, Maya Iwanaga, Miki Kawano, Rimiko Koyanagi-Katsuta, Hitoshi Katsuta, Mieko Shindo, Eiko Yoshida, Kazuhiko Kogawa, Toshirou Hara, Mine Harada, Jun Kudoh, Nobuyoshi Shimizu, The significance of Autoimmune Regulator (AIRE) Gene, Responsible for Autoimmune Polyendocrinopathy-Candidiasis Ectodermally Dystrophy (APECED), in Both Central and Peripheral Immune System. The 68<sup>th</sup> annual meeting of American Diabetes Association Scientific Sessions, 6-11, June, 2008. San Francisco.

8. 松尾友仁、進藤美恵子、松尾友仁、小川秀一郎、栗崎宏憲、原田実根、永淵正法. 自己調節遺伝子 AIRE (Autoimmune Regulator) の末梢 T 細胞系列における発現制御とその機能. 第 81 回日本感染症学会総会.平成 19 年 4 月 10 日.京都市.

[その他]

ホームページ:

<http://www.shs.kyushu-u.ac.jp/nagafuchi/>