

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007 - 2008

課題番号：19790357

研究課題名（和文） 病原微生物に対する自然免疫作動機序の解析

研究課題名（英文） Analysis of the mechanisms for innate immune responses to microbes

研究代表者

山本 雅裕（YAMAMOTO MASAHIRO）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00444521

研究成果の概要：

Toll 様受容体（TLR）シグナル伝達の負の制御因子として、ユビキチン関連分子 Trib1 を同定した。Trib1 を欠損するマウスを作製したところ、Trib1 欠損細胞において TLR 刺激による炎症性サイトカインのうち IL-12 p40 の産生が亢進していることを見出した。また、Trib1 欠損マウス由来の細胞においては、炎症促進転写因子である C/EBP のタンパク質量が増加しており、それが原因で C/EBP により制御されている遺伝子群の過剰発現が見られたことが考えられた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：TLR, シグナル伝達経路

## 1. 研究開始当初の背景

マクロファージや樹状細胞などの自然免疫担当細胞は、病原微生物の構成成分を認識し、大量の炎症性サイトカインを産生し、宿主獲得免疫系を作動させる。病原微生物の構成成分を認識する受容体として、近年、Toll 様受容体（TLR）と呼ばれるファミリー分子が研究されている。TLR シグナル伝達経路の活性化は、転写因子である NF- $\kappa$ B や AP-1、C/EBP、IRF などの種々の転写因子群の活性化が引き起こされることにより、炎症に関与する遺伝

子群の転写が起こる。しかしながら、その抑制機構については不明な点が多かった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、TLR シグナル伝達経路に転写因子レベルで正に、または負に作用するシグナル伝達分子を同定し、その生理的機能を明らかにすることである。

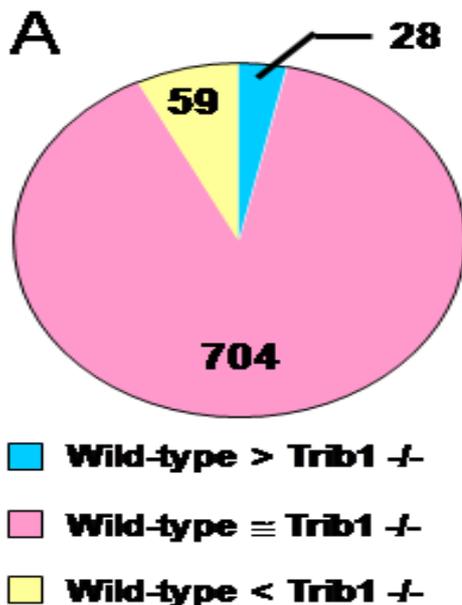
## 3. 研究の方法

TLR シグナル伝達経路に關与する転写因子に結合すると報告されている分子の遺伝子欠損マウスを作製し、その遺伝子欠損マウス由来の細胞を用いて、TLR リガンド刺激後産生される炎症性サイトカイン・遺伝子群の発現レベル及び産生量を野生型細胞と比較した。

#### 4. 研究成果

TLR シグナル伝達経路の下流に存在する MAP キナーゼの負の制御因子であると当初報告されたユビキチン関連分子 Trib1 を欠損するマウスを定法により作製した。

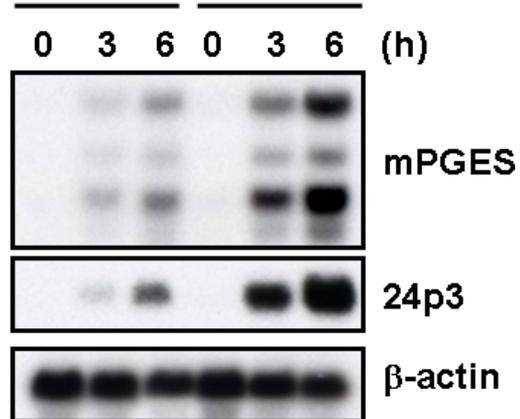
Trib1 欠損マウス由来の自然免疫担当細胞と野生型細胞を TLR リガンドの一つである LPS 刺激後その遺伝子発現を網羅的にマイクロアレイを用いて比較したところ、ある一群の LPS 誘導性遺伝子群の発現が以上に亢進していることを見出した。また、一群の LPS 誘導性遺伝子群の発現は低下しており、Trib1 が TLR シグナルに關与する分子であることが示唆された



しかしながら、Trib1 欠損細胞は野生型細胞と同様に LPS 刺激による MAP キナーゼの活性化のパターンを示したことから、MAP キナーゼの機能的欠損によりその表現系が得られているのではないことが示唆された。

Trib1 のシグナル伝達分子としての特性を検討する目的で Trib1 と結合する分子を酵母ツーハイブリッド法を用いて探索したところ、C/EBP ファミリー分子の一つである C/EBP が同定された。

#### Wild-type Trib1 -/-



Trib1 を過剰発現させた細胞では C/EBP の発現量が低下し、さらに C/EBP 依存的な遺伝子発現が低下することを見出した。

また、Trib1 欠損細胞においては、逆に C/EBP のタンパク質発現レベルの上昇と DNA 結合能の亢進がみられ、さらに C/EBP 欠損マウスは Trib1 欠損マウスと TLR リガンドに対する応答性という意味で逆の表現系を示した。

以上のことから、Trib1 は C/EBP の負の制御因子であることが判明した。

#### 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 6 件)

Saiga H, Nishimura J, Kuwata H, Okuyama M, Matsumoto S, Sato S, Matsumoto M, Akira S, Yoshikai Y, Honda K, Yamamoto M, Takeda K. Lipocalin 2-dependent inhibition of mycobacterial growth in alveolar epithelium. J Immunol. 2008 Dec 15;181(12):8521-7. 査読・有

Yamamoto M, Takeda K. Role of nuclear IkkappaB proteins in the regulation of host immune

responses. J Infect Chemother. 2008

Aug;14(4):265-9. 査読・有

Atarashi K, Nishimura J, Shima T, Umesaki Y, Yamamoto M, Onoue M, Yagita H, Ishii N, Evans R, Honda K, Takeda K. ATP drives lamina propria T(H)17 cell differentiation. Nature. 2008 Oct 9;455(7214):808-12. 査読・有

Ueta M, Hamuro J, Ueda E, Katoh N, Yamamoto M, Takeda K, Akira S, Kinoshita S. Stat6-independent tissue inflammation occurs selectively on the ocular surface and perioral skin of IkappaBzeta-/- mice. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008 Aug;49(8):3387-94. 査読・有

Nishimura J, Saiga H, Sato S, Okuyama M, Kayama H, Kuwata H, Matsumoto S, Nishida T, Sawa Y, Akira S, Yoshikai Y, Yamamoto M, Takeda K. Potent antimycobacterial activity of mouse secretory leukocyte protease inhibitor. J Immunol. 2008 Mar 15;180(6):4032-9. 査読・有

Kayama H, Ramirez-Carrozzi VR, Yamamoto M, Mizutani T, Kuwata H, Iba H, Matsumoto M, Honda K, Smale ST, Takeda K. Class-specific regulation of pro-inflammatory genes by MyD88 pathways and IkappaBzeta. J Biol Chem. 2008 May 2;283(18):12468-77. 査読・有

Yamamoto M, et al. Enhanced TLR-mediated NF-IL6 dependent gene expression by Trib1 deficiency. J Exp Med. 2007 Sep 3;204(9):2233-9. 査読・有

〔学会発表〕(計 7 件)

1. Yamamoto M, Uematsu S, Takeda K, Kawai T, Akira S. 「Trib1 is a negative regulator of NF-IL6 in TLR signaling」 Keystone Symposia, Innate Immunity: Signaling Mechanisms (Keystone Resort, Keystone, Colorado, February 24-29, 2008)
2. Kayama H, Ramirez-Carrozzi V, Yamamoto M, Smale S, Takeda K. 「Differential Regulation of Primary and Secondary Response Genes by MyD88 Pathways and IkB $\zeta$ 」 Keystone Symposia, Innate Immunity: Signaling Mechanisms (Keystone Resort, Keystone, Colorado, February 24-29, 2008)
3. 山本雅裕 「Toll-like receptor (TLR)アダプター分子・TRIF による Trypanosoma cruzi に対する感染防御機構」第 15 回分子寄生虫学ワークショップ 草津セミナーハウス, 2007 年 7 月 25 - 28 日
4. Ueta M, Hamuro J, Ueda E, Katoh N, Yamamoto M, Akira S, Kinoshita S. 「Stat6 independent tissue inflammation of IkB $\zeta$  KO mice selective in ocular surface and perioral skin」第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 グランドプリンスホテル新高輪 2007 年 11 月 20 日-22 日
5. Kato H, Sato S, Yamamoto M, Uematsu S, Matsushita K, Jung A, Ishii K, Kawai T, Takeuchi O, Akira S. 「LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses」第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 グランドプリンスホテル新高輪 2007 年 11 月 20 日-22 日
6. Uematsu S, Kaisho T, Tanaka T, Matsumoto M, Yamamoto M, Akira S. 「C/EBP $\beta$  isoform, 34 kDa LAP is responsible for NF-IL6-mediated gene induction in activated macrophages but not essential for intracellular bacteria killing」第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 グランドプリンスホテル新高輪 2007 年 11 月 20 日-22 日
7. Nishimura J, Saiga H, Matsumoto S, Kuwata H, Yoshikai Y, Yamamoto M, Takeda K. 「Critical role of mouse secretory leukocyte protease inhibitor in mycobacterial infection」第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 グランドプリンス

ホテル新高輪 2007 年 11 月 20 日-22 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 雅裕 (YAMAMOTO MASAHIRO)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00444521

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者