

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(S)

研究期間：2008～2012

課題番号：20679003

研究課題名(和文)

認識機構に着目した感染とがんに対する生体防御システムの分子機構の解明

研究課題名(英文)

Molecular mechanisms for the detection of microbes and cancer cells in innate immunity

研究代表者

高岡 晃教 (TAKAOKA AKINORI)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授

研究者番号：30323611

研究分野：分子免疫学，腫瘍学

科研費の分科・細目：基礎医学，免疫学

キーワード：パターン認識受容体，感染，ウイルス，がん，生体防御

1. 研究計画の概要

感染症は人類にとって古くから大きな問題であり，感染をコントロールするためには病原体に対する生体防御機構の解明は極めて重要な課題である．この問題に取り組むべく，我々は，最も初めのプロセスである病原体の侵入に対する宿主の『感知システム』に着目した．微生物特有の分子パターンを認識するパターン認識受容体 (pattern recognition receptors; PRRs) は I 型インターフェロン (IFN) や炎症サイトカインなどの遺伝子発現を誘導し，自然免疫応答を活性化するのみならず，適応免疫応答の強力な活性化を誘導することにつながり，感染免疫の重要な “starting switch” である．この PRRs による認識機構や下流のシグナル経路を解明することにより，感染をコントロールするための有用な標的を見出すことが期待される．

本研究では，自然免疫系における DNA センサーを中心とした細胞質核酸認識機構およびそれを介して活性化される自然免疫応答を規定するシグナルの制御を明らかにする研究を推進することによって，特にウイルス感染の治療や予防に有用な新しい分子基盤を提示し，感染症のコントロールに貢献することを目指す．

2. 研究の進捗状況

現在までに複数の候補分子を同定するに至った．その中でまず，ポリ ADP リボースポリメラーゼ (PARP) スーパーファミリーに着目して解析を進めた結果，自然免疫シグナル経路を強力に活性化する新しい制御因子として，PARP-13/ZAP のアイソフォームを同定し，ZAPS (zinc finger antiviral protein, short form) と名付けた．ZAPS は I 型 IFN によって選択的に誘導され，AT-rich な B 型 DNA

(B-DNA) を細胞質にトランスフェクションした場合の I 型 IFNs (IFN- α/β) のみならず，IL-6 や TNF- α などの炎症性サイトカインの発現誘導を強力に増強した．更に ZAPS の作用は，B-DNA 刺激のときと同様に細胞質へ RNA をトランスフェクションした際にも増強効果が確認された．以上の結果から，ZAPS は細胞質 B-DNA および RNA の両者の刺激による自然免疫応答の正の制御因子であることが示された．一方，我々は，ZAPS が刺激依存的に RIG-I (retinoic acid-inducible gene-1) と直接的な会合を示すことも見出し，細胞質 B-DNA および RNA 両経路への ZAPS の増強効果は，RIG-I を作用点とするものであることが明らかとなった．実際に，siRNA を用いて ZAPS の発現を抑制させた健康人末梢血由来の CD14 陽性単球において，ZAPS による自然免疫応答の増強作用が有意に障害された．更に zinc-finger nuclease を用いて独自に作製した ZAPS 遺伝子欠損ヒト細胞において，RIG-I によって認識されることで知られているニューキャッスル病ウイルスによる IFN- β mRNA の発現誘導が顕著に阻害された．逆に ZAPS の発現レベルを増加させることで，今度はインフルエンザウイルス感染時の IFN- β の産生誘導が顕著に増強され，有意な抗ウイルス効果がみとめられたことより，RIG-I シグナルを活性化するウイルスによる感染での ZAPS の役割をヒト細胞において示すことができた．

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]：現時点において，細胞質 B-DNA および RNA の核酸認識経路に関わる新規の制御因子 ZAPS を独自に同定し，そのウイルス感染における重要な役割について *Nature*

Immunology 誌に論文を發表することができた。今回の成果では、細胞レベルではあるが、特にインフルエンザウイルス感染に対する自然免疫の増強効果が示されたこともあり、ZAPS が感染防御のための新しい標的因子となり得る可能性が示唆されたことは、本研究の目標にかなった新規因子を同定したと判断している。また本研究に関する社会的な反響も大きかった。次項に記した方針でこの成果を更に推進していきたいと考えている。

前項の進捗状況には記述しなかったが、ZAPS 以外の DNA 認識機構やそのシグナル経路に関わる候補分子についてもすでに機能解析が終了しており、論文をまとめる段階に入っている。これに関連して、DNA ウイルスであるサイトメガロウイルス (CMV) の DNA センサー候補分子を同定しつつある。

以上、これまで得られた結果をもとに、平成 23 年度および 24 年度と継続して研究を推進していくことで、予定通りの成果が見込まれると考えております。更に努力を重ねて、少しでも予定以上の成果を出せるように頑張っていきたいと思っております。

4. 今後の研究の推進方策

今回同定された ZAPS が RIG-I を介して自然免疫応答を強力に増強することから、C 型肝炎ウイルスや麻疹ウイルスなどの RIG-I を介して認識される様々なウイルスの感染防御での広い役割が想定されるが、残りの研究期間では、近年、特に社会的に大きな問題となっているインフルエンザウイルスに着目して ZAPS の研究を進展させる予定である。実際にすでに ZAPS とインフルエンザウイルス由来の特定のタンパク質との機能的な関連性が RIG-I を中心として明らかになりつつあり、今後、マウスを用いた感染実験を含めた形で ZAPS の *in vivo* での感染防御の役割について明らかにしたい。一方、ZAPS が B-DNA に対する結合活性を示す結果も得られており、それ自体に DNA センサーあるいは共受容体としての役割がある可能性についても今後検討していきたい。

ZAPS 以外の候補分子については論文をまとめる方向性で残りの解析を進めている。これに関連して、前述の CMV の DNA 認識に関与すると考えられるセンサー候補は、更に興味深いことに CMV ウイルス由来の特定のタンパク質の標的となっている可能性も考えられ、「ウイルスによる自然免疫回避」を阻害するといった視点からの CMV に対する感染防御に有用な分子基盤を、残りの研究期間で明らかにしたいと考えている。

がん細胞認識に関する研究では、がん化の過程で獲得する DNA メチル化などに着目して研究を推進している。このような DNA の修飾が自然免疫応答に及ぼす影響について解析中である。担癌マウスを用いた *in vivo* での

評価を含めて論文にまとめる予定である。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 5 件)

- 1) Hayakawa, S., Shiratori, S., Yamato, H., Kameyama, T., Kitatsuji, C., Kashigi, F., Goto, S., Kameoka, S., Fujikura, D., Yamada, T., Mizutani, T., Kazumata, M., Sato, M., Tanaka, J., Imamura, M., Asaka, M., Ohba, Y., Miyazaki, T., and Takaoka, A. ZAPS is a potent stimulator of RIG-I-mediated signaling during antiviral response. *Nat. Immunol.*, **12**, 37-44, 2011. 査読あり
- 2) Chen, H. M., Tanaka, N., Mitani, Y., Oda, E., Nozawa, H., Chen, J. Z., Yanai, H., Negishi, H., Choi, M. K., Iwasaki, T., Yamamoto, H., Taniguchi, T., and Takaoka, A. Critical role for constitutive type I interferon signaling in the prevention of cellular transformation. *Cancer Sci.*, **100**, 449-456, 2009. 査読あり
- 3) Takaoka, A., and Taniguchi, T. Cytosolic DNA recognition for triggering innate immune responses. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 847-857, 2008. 査読あり
- 4) Wang, Z., Choi, M. K., Ban, T., Yanai, H., Negishi, H., Lu, Y., Tamura, T., Takaoka, A., Nishikura, K., and Taniguchi, T. Regulation of innate immune responses by DAI (DLM-1/ZBP1) and other DNA-sensing molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 5477-5482, 2008. 査読あり
- 5) Takaoka, A., Tamura, T., and Taniguchi, T. IRF family of transcription factors and regulation of oncogenesis. *Cancer Sci.*, **99**, 467-678, 2008. 査読あり

[学会発表] (計 13 件)

- 1) Takaoka, A. Identification of a novel regulator of the innate signaling activated by virus-derived nucleic acids, Annual Meeting of the French Society for Immunology 2010, Marseilles, France 2010.11.25.
- 2) Takaoka, A. A Novel Regulator of the Innate Signaling Activated by Cytoplasmic Nucleic Acids, BIT's 1st World Congress Of Virus and Infections 2010, Busan, Korea 2010.7.31.
- 3) 高岡晃教, 早川清雄, SCI2 を介した自然免疫応答制御, 第 82 回日本生化学会大会, 神戸 2009.10.24.
- 4) Takaoka, A. Activation of Innate Immune Response Mediated by DNA-triggered Danger Signals, The 36th Congress of the International Society of Oncology & BioMarkers, Tokyo, Japan 2008.10.6.

[図書] (計 2 件)

- 1) 高岡晃教, 肝炎の基礎 DNA ウイルスに対する自然免疫. 肝疾患 Review 2008-2009, 128-137, 2008 (分担).
- 2) 高岡晃教, 佐藤昇志, 宮崎忠昭, がん治療の分子標的となる IFN-IRF 系のシグナル伝達分子. がんの分子標的治療, 358-362, 2008 (分担).

[その他]

ホームページ:

<http://www.igm.hokudai.ac.jp/sci/>