

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590547

研究課題名（和文） 形質細胞様樹状細胞における I 型インターフェロン産生制御機構の解明

研究課題名（英文） Elucidation of the mechanisms in the regulation of type I interferon production in plasmacytoid dendritic cells

## 研究代表者

渡会 浩志 (WATARAI HIROSHI)

独立行政法人理化学研究所・免疫制御研究グループ・上級研究員

研究者番号：70415339

研究成果の概要（和文）：形質細胞様樹状細胞（PDC）は、大量の I 型インターフェロン（IFN-I）を産生することで、種々のウイルスに対する生体防御反応の中心を担っている。PDC はウイルスや細菌の核酸に対するセンサーである TLR7 や TLR9 を高発現しているものの、大量の IFN-I を産生する分子機構については不明な点が多い。本研究では、活性化 PDC 特異的細胞表面分子 PDC-TREM の発見を契機として、本分子が Sema6D のリガンドである PlxnA1 と相互作用し、DAP12 を介して IFN-I 産生調節を行っていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Plasmacytoid dendritic cells (PDC) play a pivotal role in host defense against viruses by their robust production of type I interferons. They exclusively express TLR7 and TLR9 which is a sensor to viral and microbial DNA and RNA, while it has still been unclear in the mechanisms in the augmentation and regulation of cytokine productions. In this research, PDC-TREM, a specific surface receptor on activated PDC surface, has been investigated. PDC-TREM is associated with PlxnA1, a ligand for Sema6D, and gives signals through adaptor molecule DAP12, resulting in the regulation of type I IFN production.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：(1) 形質細胞様樹状細胞、(2) インターフェロン、(3) 生体防御、(4) ウイルス、(5) Toll 様受容体、(6) プレキシシン、(7) セマフォリン

1. 研究開始当初の背景  
ウイルスに対する生体防御反応の中心を担

うサイトカインとして、インターフェロン $\alpha$  や $\beta$ といった I 型インターフェロン (IFN-I)

が広く知られていたが、IFN-I はほぼ全ての細胞が産生し、IFN-I 産生に特化する細胞は知られていなかった。1999年、ヒト末梢血中に大量のIFN-Iを産生する細胞として形質細胞様樹状細胞(PDC)が同定され(Siegal et al, Science 284:1835-7, 1999)、ウイルスなどの外来微生物に対する生体防御反応の中心を担い得る細胞として同定された。ヒトPDCはToll様受容体TLR7およびTLR9を高発現し(Kadowaki et al, J Exp Med 194:863-9, 2001)、ssRNAやCpGに反応して大量のIFN-Iを産生する。しかしながら、TLR認識後に大量のIFN-Iを産生する分子機構については不明な点が多かった。

## 2. 研究の目的

上記のようにIFN-Iはウイルスに対する生体防御反応に重要である他、IFN-Iの過剰産生は全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群といった自己免疫疾患を引き起こすことが示唆されている。従って、PDCにおけるIFN-Iの産生調節機構を詳細に明らかにすることは生体防御反応、自己免疫疾患の予防・寛解の両面から極めて重要な課題である。本研究では申請者が新しく同定したPDC特異的細胞表面分子PDC-TREMの機能を明らかにすることを通して、PDCにおけるIFN-Iの産生調節機構を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

PDC-TREMに対する特異的モノクローナル抗体および遺伝子欠損マウスを樹立し、試験管内及び生体内における分子の性状解析に役立てる。野生型マウス由来あるいは*Pdc-trem*欠損マウス由来の脾臓PDCにおけるCpG刺激後のIFN-I産生に対する影響を調べる。同時に、PDC-TREM下流のシグナル伝達経路を明らかにするとともに、ウイルス感染時の生体内における役割を明確にする。

## 4. 研究成果

PDC-TREMはTLR9刺激後のIFN-I産生の増幅機構に関与していることが明らかとなった。すなわちPDC-TREM抗体処理あるいは*Pdc-trem* shRNA処理により、PDCからのIFN-I産生が著しく減じること、また*Pdc-trem*欠損マウス由来PDCは野生型のそれに比べて約1/10~1/5のIFN-Iしか産生できないことが明らかとなった。PDC-TREMは細胞膜貫通領域のリジン残基を介してDAP12と会合し、細胞外領域は同じ細胞上のPlxnA1と会合している。PlxnA1のリガンドの一つであるSema6D刺激によって、PDC-TREM/DAP12は活性化し、

下流のPI3KやErk1/2を活性化する。PDC-TREMは生体内におけるウイルスに対する生体防御反応にも必須で、HSV-1感染によって野生型マウスが80%生存するsub-lethal doseにおいて、欠損マウスにおいては感染後10日前後で全て死に至る。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計12件)

1. Watarai H, Sekine-Kondo E, Motomura H, Yasuda T, Yoshida H, Kubo M, Koseki H, Taniguchi M. Development and function of invariant natural killer T cells producing  $T_H2$ - and  $T_H17$ -cytokines. *PLoS Biol* 10(2):e1001255 (2012). 査読有
2. Tashiro T, Ishii Y, Shigeura T, Nakagawa R, Watarai H, Taniguchi M, Mori K. RAI-39, 41, 53, 100, 127 and 128, the analogues of KRN7000, activate mouse natural killer T cells to produce Th2-biased cytokines by their administration as liposomal particles. *Med Chem Comm* 2: 620-625 (2011). 査読有
3. Motomura Y, Kitamura H, Hijikata A, Matsunaga Y, Matsumoto K, Inoue H, Atarashi K, Hori S, Watarai H, Zhu J, Taniguchi M, Kubo M. E4bp4, a mammalian basic leucine zipper transcriptional factor, is a critical regulator of IL-10 and IL-13 production by CD4 T cells. *Nat Immunol* 12(5):450-459 (2011). 査読有
4. Shiozaki M, Tashiro T, Koshino H, Nakagawa R, Inoue S, Shigeura T, Watarai H, Taniguchi M, Mori K. Synthesis and biological activity of ester and ether analogues of  $\alpha$ -galactosylceramide (KRN7000). *Carbohydr Res* 345(12):1663-1684 (2010). 査読有
5. Watarai H, Fujii SI, Yamada D, Rybouchkin A, Sakata S, Nagata Y, Iida-Kobayashi M, Sekine-Kondo E, Shimizu K, Shozaki Y, Sharif J, Matsuda M, Mochiduki S, Hasegawa T, Kitahara G, Endo T, Toyoda T, Ohara O, Harigaya KI, Koseki H, Taniguchi M. Murine induced pluripotent stem cells can be derived from and differentiate into natural killer T cells. *J Clin Invest* 120(7):2610-2618 (2010). 査読有
6. Tashiro T, Sekine-Kondo E, Shigeura T,

- Nakagawa R, Inoue S, Omori-Miyake M, Chiba T, Hongo N, Fujii SI, Shimizu K, Mori K, Yoshiga Y, Sumida T, Watarai H, Taniguchi M. Induction of Th1-biased cytokine production by  $\alpha$ -carba-GalCer, a neoglycolipid ligand for natural killer T cells. *Int Immunol* 22(4):319-328 (2010). 査読有
7. Angkasekwinai P, Chang SH, Thapa M, Watarai H, Dong C. Regulation of IL-9 expression by IL-25 signaling. *Nat Immunol* 11(3):250-256 (2010). 査読有
  8. Matsuoka N, Itoh T, Watarai H, Sekine-Kondo E, Nagata N, Okamoto K, Mera T, Yamamoto H, Yamada S, Maruyama I, Taniguchi M, Yasunami Y. High-mobility group box 1 is involved in the initial events of early loss of transplanted islets in mice. *J Clin Invest* 120(3):735-743 (2010). 査読有
  9. Watarai H, Rybouchkin A, Hongo N, Nagata Y, Sakata S, Sekine E, Dashtsoodol N, Tashiro T, Fujii SI, Shimizu K, Mori K, Masuda K, Kawamoto H, Koseki H, Taniguchi M. Generation of functional NKT cells in vitro from embryonic stem cells bearing rearranged invariant V $\alpha$ 14-J $\alpha$ 18 TCR  $\alpha$  gene. *Blood* 115(2): 230-237 (2010). 査読有
  10. Taniguchi M, Tashiro T, Dashtsoodol N, Hongo N, Watarai H. The specialized iNKT cell system recognizes glycolipid antigens and bridges the innate and acquired immune systems with potential applications for cancer therapy. *Int Immunol* 22(1):1-6 (2010). 査読有
  11. Hase K, Kimura S, Takatsu H, Ohmae M, Kawano S, Kitamura H, Ito M, Watarai H, Hazelett CC, Yeaman C, Ohno H. M-Sec promotes membrane nanotube formation by interacting with Ral and the exocyst complex. *Nat Cell Biol* 11(12):1427-1432 (2009). 査読有
  12. Tashiro T, Nakagawa R, Hirokawa T, Inoue S, Watarai H, Taniguchi M, Mori K. RCAI-37, 56, 59, 60, 92, 101, and 102, cyclitol and carbasugar analogs of KRN7000: their synthesis and bioactivity for mouse lymphocytes to produce Th1-biased cytokines. *Bioorgan Med Chem* 17(17):6360-6373 (2009). 査読有
- [学会発表] (計10件)
1. Watarai H, Sekine-Kondo E, Taniguchi M. Development and function of invariant natural killer T cells producing T<sub>H</sub>2- and T<sub>H</sub>17-cytokines. Keystone Symposia: The Biology of Cytokines/Th17 Cells in Health and Disease, Keystone, USA, 2012年2月8日
  2. 渡会浩志, 気道過敏性発症に関与する炎症性ナチュラルキラーT細胞の機能と分化、第48回日本小児アレルギー学会・第16回アジア太平洋小児アレルギー呼吸器免疫学会 合同学術大会、福岡国際会議場、2011年10月28日
  3. Watarai H, Sekine-Kondo E, Taniguchi M. Development and function of invariant natural killer T cells producing T<sub>H</sub>2- and T<sub>H</sub>17-cytokines. 6<sup>th</sup> International Symposium on CD1 and NKT cells, Chicago, USA, 2011年9月24日
  4. 渡会浩志, ナチュラルキラーT (NKT) 細胞による気道過敏症発症と炎症慢性化機構、第3回小児気道アレルギーフォーラム、ホテルニューオータニ博多、2011年5月21日
  5. Watarai H, Fujii S, Yamada D, Rybouchkin A, Sakata S, Nagata Y, Iida-Kobayashi M, Sekine-Kondo E, Shimizu K, Endo TA, Toyoda T, Ohara O, Koseki H, Taniguchi M. Reprogramming of natural killer T (NKT) cells to induced pluripotent stem cells and their development into functional NKT cells in vitro. 16<sup>th</sup> International Conference of the International Society of Differentiation, Nara, Japan, 2010年11月16日
  6. Watarai H, Fujii S, Koseki H, Taniguchi M. Murine induced pluripotent stem cells can be derived from and differentiate into natural killer T cells. 11<sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells: Forum on Vaccine Science, Lugano, Switzerland, 2010年9月27日
  7. 渡会浩志, iPS cell-derived natural killer T cells. 第2回 Meet the Expert, 広島大学、2010年9月15日
  8. 渡会浩志, Therapeutic potential of natural killer T cells derived from iPS cells. 第15回神経芽腫研究会、国立がんセンター、2010年8月28日
  9. Watarai H, Fujii S, Yamada D, Rybouchkin A, Sakata S, Nagata Y, Iida-Kobayashi M, Sekine-Kondo E,

- Shimizu K, Endo TA, Toyoda T, Ohara O, Koseki H, Taniguchi M. Reprogramming of natural killer T (NKT) cells to induced pluripotent stem cells and their development into functional NKT cells in vitro. 14<sup>th</sup> International Congress on Immunology, Kobe, Japan, 2010年8月23日
10. 渡会浩志、気道過敏症発症に関与する新しい細胞集団の発見、第12回小児吸入療法フォーラム、ベルサール神田、2009年11月21日

〔図書〕(計13件)

1. 渡会浩志、気道過敏性発症に関与する炎症性NKT細胞サブセットの機能と胸腺内分化、先端医学社「炎症と免疫」20(2):137-143(2012).
2. 渡会浩志・田代卓哉・谷口克、糖脂質リガンドの相違によるNKT細胞のサイトカイン産生、科学評論社「臨床免疫・アレルギー科」54(6):687-694(2010).
3. 渡会浩志・谷口克、NKT細胞、エル・アイ・シー「免疫疾患」178-183(2011).
4. Taniguchi M, Fujii S, Nakayama T, Motohashi S, Dashtsoodol N, Watarai H, Harada M. Mechanisms of NKT-cell-mediated adjuvant activity and function of iPS-derived NKT cells. Springer, *Natural Killer T cells: Balancing the Regulation of Tumor Immunity*, 1-14 (2011).
5. Watarai H, Harada M, Tamari M, Taniguchi M. A role for natural killer T-cell subsets in the pathogenesis of various allergic disorders. Wiley Blackwell, *Inflammation and Allergy Drug Design*, 59-66 (2011).
6. 渡会浩志・谷口克、抗腫瘍効果を発揮する免疫担当細胞NKT細胞のiPS細胞からの分化誘導、エヌ・ティー・エス「生物の科学 遺伝」65(1):137-143(2011).
7. 渡会浩志・谷口克、IL-17 レセプターB陽性NKT細胞によるアレルギーの誘導、科学評論社「臨床免疫・アレルギー科」53(1):1-7(2010).
8. 渡会浩志・谷口克、ナチュラルキラーT細胞の発生と分化、医歯薬出版株式会社「医学のあゆみ」234(5):445-452(2010).
9. 渡会浩志・谷口克、IL-25によるNKT細胞のサイトカイン産生、科学評論社「臨床免疫・アレルギー科」52(2):237-239(2009).
10. 渡会浩志、アレルギー性喘息など気道過

敏性を引き起こす細胞の発見、日本農芸化学会誌「化学と生物」47(9):596-598(2009).

11. 渡会浩志・谷口克、IL-17RB+NKT細胞による喘息誘導、医薬の門社「感染 炎症免疫」39(3):240-242(2009).
12. 渡会浩志・谷口克、NKT細胞による免疫制御機構とアレルギー発症のメカニズム、羊土社「実験医学増刊・アレルギー疾患の免疫機構」27(20):3226-3231(2009).
13. 渡会浩志・谷口克、アレルギー性ぜんそくとNKT細胞、ニューサイエンス社「メディカル・サイエンス・ダイジェスト」35(12):480-481(2009).

〔産業財産権〕

○出願状況(計6件)

1.
 

名称：iPS細胞由来アロNKT細胞を用いた免疫療法およびそのためのNKT細胞由来iPS細胞および該iPS由来NKT細胞のバンクング

発明者：谷口克、渡会浩志、古関明彦、藤井眞一郎

権利者：独立行政法人理化学研究所

種類：米国出願

番号：US61/419064

取得年月日：2011年12月2日

国内外の別：国外
2.
 

名称：非アレルギー性気道炎症及び/または非アレルギー性気道過敏症の治療薬

発明者：渡会浩志、谷口克

権利者：独立行政法人理化学研究所

種類：米国仮出願

番号：US61/553544

取得年月日：2011年10月31日

国内外の別：国外
3.
 

名称：新規合成糖脂質およびその用途

発明者：田代卓哉、森謙治、汐崎正生、谷口克、渡会浩志、重浦智邦

権利者：独立行政法人理化学研究所

種類：国内出願

番号：JP2010/024859

取得年月日：2010年2月5日

国内外の別：国内
4.
 

名称：エステル化 $\alpha$ -ガラクトシルセラミド類

発明者：汐崎正生、田代卓哉、森謙治、中川竜介、渡会浩志、谷口克、鈴木小夜

権利者：独立行政法人理化学研究所  
種類：国際出願  
番号：W02009/065963  
取得年月日：2009年9月11日  
国内外の別：国際

5.  
名称：NKT細胞由来 iPS細胞およびそれ由来のNKT細胞  
発明者：谷口克、渡会浩志、古関明彦、藤井眞一郎、小林美登里、坂田さくら、長田夕子  
権利者：独立行政法人理化学研究所  
種類：国際出願  
番号：W02009/065695  
取得年月日：2009年9月8日  
国内外の別：国際

6.  
名称：B細胞由来 iPS細胞およびその用途  
発明者：谷口克、渡会浩志、伊川友活、石川文彦、河本宏、古関明彦、小林美登里  
権利者：独立行政法人理化学研究所  
種類：国際出願  
番号：W02009/065534  
取得年月日：2009年9月4日  
国内外の別：国際

[その他]

ホームページ等

<http://www.riken.jp/r-world/research/lab/rcai/regulation/index.html>

<http://web.rcai.riken.jp/en/labo/regulation/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡会 浩志 (WATARAI HIROSHI)

独立行政法人理化学研究所・免疫制御研究グループ・上級研究員

研究者番号：70415339

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし