

自然免疫とウイルス感染

北海道大学 遺伝子病制御研究所 分子生体防御分野 高岡晃教

はじめに

10年前のある免疫学の教科書には“natural resistance”、すなわち自然抵抗性という言葉で表現されていた自然免疫は、皮膚などの解剖学的因子をはじめ、食細胞などに代表される細胞性因子、そしてリゾチームやインターフェロンなどの液性因子から構成される「非特異的な」感染防御機構として、教科書全体の5%にも満たないページ数で記載されていた。この「非特異的」と言い表されていた感染初期の防御機構の考えを結果的に大きく変えるきっかけは、Hoffmann 氏らのグループによるハエにおける Toll 分子の真菌感染防御としての役割の発見であったと考えられる。引き続き、Medzhitov 氏や Janeway 氏らのグループがヒトホモログ、すなわち Toll 様受容体(Toll-like receptors; TLRs)を同定し、この下流において、炎症性サイトカインや T 細胞受容体の共刺激分子の発現誘導を引き起こすことが明らかとなり、適応免疫系活性化を誘導する重要な分子であることが示された。その後、審良氏らによる遺伝子欠損マウスの研究も加わり、多くのメンバーからなる膜型受容体ファミリーが同定され、これらの分子はリポ多糖類 (lipopolysaccharide; LPS) など様々な病原体由来の構成分子のパターン (pathogen-associated molecular patterns; PAMPs) を認識することが明らかとなり、パターン認識受容体 (pattern recognition receptors; PRRs) として新しい分子群が登場した¹⁾。これらの発見により、とくに以下の2つのことが自然免疫系の新たな局面として加わったと考えられる。ひとつは、自然免疫系においても適応免疫系に比べ、その程度は低い、特異的な病原体の認識機構が存在していることが明らかとなった。さらに、もうひとつは、TLRs で代表される PRRs は、その受容体下流において細胞内シグナル伝達を引き起こし、その結果、適応免疫系の活性化を誘引するという、自然免疫系と適応免疫系とを有機的に連携する仲介役として重要な役割を担っていることも明らかとなった。本稿においては、とくにウイルス感染に着目して、自然免疫系におけるウイルス認識およびその後の宿主細胞応答の活性化機構に関する最近の話題を紹介したい。

1. パターン認識受容体とその下流のシグナル伝達経路

パターン認識受容体 (PRRs) は、その特徴から、いくつかに分類して考えることができる(表1)。

PRRの種類	PRRsの例	主な機能
分泌型	マンノース結合レクチン、補体など	補体の活性化など
膜型	非シグナルタイプ スカベンジャー受容体、 DC-SIGNなど	貪食作用の亢進など
	シグナルタイプ TLRs, Dectin-1など	
細胞質型	NLRs, RLR, DAI, 他のDNAセンサー	炎症性サイトカイン・ケモカイン、 リンパ球共刺激分子などの発現誘導、 インターフェロン

1つは、マンノース結合レクチン(mannose-binding lectin; MBL)や補体などが例として挙げられる分泌型 PRRs。2つ目は膜型 PRRs であり、これはスカベンジャーレセプターや DC-SIGN(dendritic-cell specific ICAM-3 grabbing non-integrin, CD209)などの細胞内情報伝達や遺伝子発現を引き起こさないタイプ(non-signaling type)と、TLRs や Dectin-1 などのシグナルを引き起こすタイプ(signaling type)の2つに細分化して考えることができる。3つ目は細胞質型 PRRs であり、RIG-I(retinoic acid-inducible gene-1)/MDA5(melanoma differentiation associated gene-5)や NODs(nucleotide binding oligomerization domains)、DAI(DNA-dependent activator of interferon-regulatory factors; DLM-1/ZBP1)などが例として挙げられるが、これらの細胞質型 PRRs はどれも細胞内にシグナル伝達を行うことが知られている。これらの PRRs のなかで、とくにシグナル伝達タイプのもは、様々な PAMPs(表2)を認識後、それぞれの受容体に特徴的なドメインを介し、特異性の高いアダプター分子が会合することで細胞内シグナル伝達経路のネットワークが活性化される(図1)。

表2 シグナル伝達タイプのPRRsとそのリガンドとなるPAMPs

ファミリーの名称	代表的なメンバー	PAMPs	
TLRs	ヒト: TLR1~10 (10種類) マウス: TLR1~9, TLR11~13 (12種類)	TLR1	トリアシルポリペプチド(細菌)
		TLR2	リポペプチド, ペプチドグリカン, リポタイコ酸(細菌), ザイモザン(真菌), ヘマグルチニンタンパク質(麻疹ウイルス), T.cruzi のGPIアンカータンパク質(寄生虫)
		TLR3	二本鎖RNA(ウイルス), Poly(I:C)
		TLR4	LPS(細菌), 融合タンパク質(RSウイルス), 封入体タンパク質(マウス乳癌ウイルス), T.cruzi のglycoinositolphospholipid(寄生虫)
		TLR5	フラゼリン(細菌)
		TLR6	ジアシルポリペプチド(細菌)
		TLR7/8	一本鎖RNA(ウイルス), イミダゾキノリン誘導体(抗ウイルス薬)
		TLR9	CpG DNA(細菌, ウイルス), T. cruzi のゲノムヘモソイン(寄生虫)
		TLR10(ヒト)	不明
		TLR11(マウス)	尿路感染細菌の菌体成分(細菌), T. gondii のプロフィリン様分子(寄生虫)
		TLR12(マウス)	不明
		TLR13(マウス)	不明
	NLRs	23種類(ヒト) 34種類(マウス)	NOD1
		NOD2	ペプチドグリカンの muramyl dipeptide (MDP) (多くのグラム陽性菌)
		Nalp3	ペプチドグリカン
RLRs	3種類	RIG-I	5'末端が三リン酸化されている一本鎖RNA, ニューカッスル病ウイルス, センダイウイルスなどの paramyxovirus 科ウイルス, インフルエンザウイルス, 日本脳炎ウイルス, VZVなどの短い二本鎖RNA
		MDA5	脳心筋炎ウイルスなど picornavirus科の二本鎖RNA, 長い poly(I:C)
		Lgp2	不明
CLR	17種類	Dectin-1 (CLR type II)	β -グルカン(真菌)

PRRs, pattern-recognition receptors; PAMPs, pathogen-associated molecular patterns; TLRs, Toll-like receptors; NLRs, NOD-like receptors; RLRs, RIG-I like receptors; CLR, C-type lectin receptor; MDA5, melanoma differentiation-associated gene 5; GPI, glycosylphosphatidylinositol; LPS, lipopolysaccharide; RS, respiratory syncytial; DAI(DLM-1/ZBP1), DNA-dependent activator of IRFs; MMR, macrophage mannose receptor.

ほとんど全てのシグナル伝達タイプの PRRs では、NF- κ B 活性化経路が活性化される。またウイルスの認識に関与する PRRs の下流では、加えて IRF (IFN-regulatory factor) ファミリー転写因子の活性化がおこり、I 型インターフェロン(interferon; IFN)遺伝子発現誘導が行われるのが特徴である。近年、I 型 IFNs 以外の IFN ファミリーメンバーである IFN- λ s (λ 1, λ 2, λ 3)が誘導され、ウイルス防御に働くことも報告されている。IFN- λ s はその受容体が I 型(IFN- α/β など)や II 型 IFN(IFN- γ)とは異なり、ユニークな IFN- λ R1 と IL-10R2 から構成されていることから III 型 IFNs と分類されている。ヒト線維芽細胞において、Newcastle disease virus (NDV)やセンダイウイルス(Sendai virus; SeV)による感染では IFN- λ 1 および λ 2 が、インフルエンザ A ウイルスによる感染では IFN- λ 1 のみ(IFN- λ 2 が誘導されない理由は不明である)が発現誘導され²⁾、この場合、IFN- α/β の誘導と同様に、RIG-I-IPS-1

(IPS-1 / MAVS / VISA / Cardif ; IFN-beta promoter stimulator 1 / mitochondrial antiviral signaling protein / virus-induced signaling adaptor / CARD adaptor inducing interferon-beta)-IRF 経路を介している²⁾。実際に、IFN- λ 1 および λ 2 の遺伝子のプロモーター領域に IRF や NF- κ B の転写因子結合配列が数多く存在していることが示されている²⁾。一方、NODs ファミリーの中でも、Nalp ファミリーメンバーの一部は、caspase 1 を活性化することで、インターロイキン-1(interleukin-1; IL-1)の成熟を促進する。

このように、シグナル伝達タイプの PRRs は I 型 IFNs をはじめとするサイトカインやケモカイン、抗菌ペプチドなどの発現誘導を引き起こし、自然免疫系の活性化を来すとともに、CD28 などの共刺激分子や主要組織適合抗原 (major histocompatibility complex; MHC) の発現を増強することで、次なる適応免疫系の活性化へ連携させる役割もある。

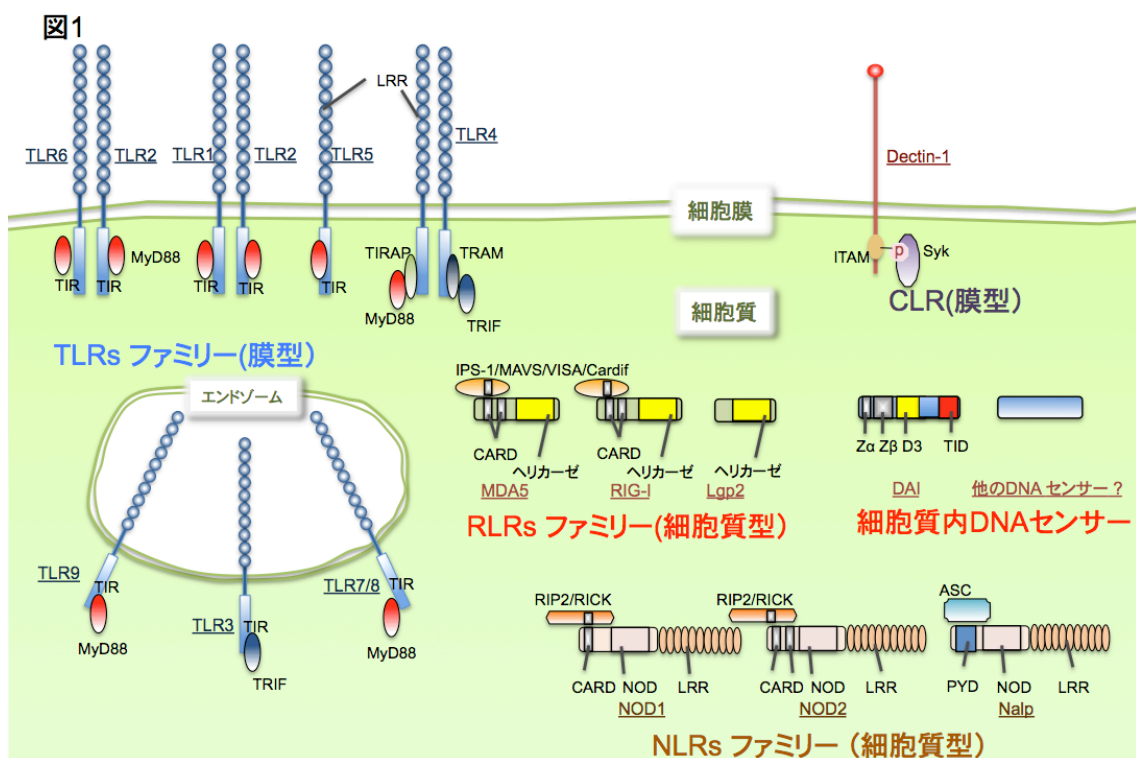


図1 シグナル伝達系PRPsと主なアダプター分子
病原体関連分子パターン(pathogen-associated molecular patterns; PAMPs)を認識するパターン認識受容体(pattern recognition receptor; PRRs)は、分泌型、膜型、細胞質型の3種類に分類される(表1参照)が、ここでは主に膜型と細胞質型のPRPsについての代表的なメンバーを示した。TLRsは細胞表面もしくはエンドソームに局在する膜型タンパク質であり、細胞表面に局在するTLR2はTLR6およびTLR1とそれぞれヘテロ二量体を形成する。TLR3をのぞき、すべてのTLRsの細胞内領域にあるTIRドメインを介してMyD88アダプター分子が結合し、NF- κ B活性化を誘導する。TLR4はTIRAPを介してMyD88と結合する。また一方で、TRAMを介してTRIFとも結合する。TLR3はTRIFと結合する。いずれの場合もTRIFを介してIFN誘導経路が活性化される。TLR9/8/7の場合のみMyD88を介してIFNの産生誘導につながる。他の細胞膜型PRPsであるC型レクチン受容体(CLR)のDectin-1は、その細胞質内領域に存在するITAMモチーフのリン酸化を介してSykキナーゼがリクルートし、ついでCARD9-Bcl10-Malt1依存性にNF- κ B活性化を起す。一方、細胞質型受容体であるNLRsの中でNOD1/2は、CARDを介してRIP2/RICKキナーゼが結合することでシグナルが伝達される。NalpはPYDを介してASCと結合してcaspase-1の活性化につながる。RLRファミリーメンバーのうち、RIG-IとMDA5はCARDを介して共通のIPS-1/MAVS/VISA/Cardifアダプター分子と結合して下流にシグナルを伝達する。細胞質DNA認識受容体としてDAI(DLM-1/ZBP1)およびその他にもDNAセンサーの存在が示唆されている。DAI(DLM-1/ZBP1)下流のアダプター分子についてはまだ不明である。TLRs, Toll-like receptors; CLR, C-type lectin receptor; NLRs, NOD-like receptors; NOD, nucleotide-binding oligomerization domain; RIG-I, retinoic acid-inducible gene 1; MDA5, melanoma differentiation-associated gene 5; DAI (DLM-1/ZBP1), DNA-dependent activator of IRFs; TIR, Toll/IL-1 receptor domain; CARD, caspase activation and recruitment domain; LRR, leucine rich repeat; LGP2, laboratory of genetics and physiology 2; TID, TBK1-IRF-interacting domain; RICK, RIP-like interacting CLARP kinase; ASC, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD; PYD, Pyrin domain.

2. ウイルス感染におけるパターン認識受容体の関与

ウイルス感染の際に、ウイルスの認識に関与することが示されている代表的な PRRs について表3にまとめてある。ウイルス感染では多くの場合、核酸がウイルスタンパク質が PRRs の標的となる。また、核酸受容体は RNA センサーと DNA センサーがあり、センサー分子の局在部位によって現時点においては、エンドソーム内で sensing するものと細胞質で sensing するものの2つ分類して考えることができる(図1)。

表3 ウイルスと PRRs との関連

ウイルス科	ウイルスゲノム	ウイルス	PRR	文献
フラビウイルス科 (Flaviviridae)	一本鎖RNA (+)	C型肝炎ウイルス (HCV)	PKR, RIG-I	1)Saito T, Hirai R, Loo YM et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 104 : 582-587, 2007 2)Langland JO, Cameron JM, Heck MC et al : <i>Virus Res</i> 119 : 100-110, 2006 3)Kato H, Takeuchi O, Sato S et al : <i>Nature</i> 441 : 101-105, 2006
ピコルナウイルス科 (Picornaviridae)	一本鎖RNA (+)	日本脳炎ウイルス (JEV)	RIG-I	4)Gitlin L, Barchet W, Gilfillan S et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 103 : 8459-8464, 2006
レトロウイルス科 (Retroviridae)	一本鎖RNA (+)	脳心筋炎ウイルス (EMCV)	MDA5	5)Rassa JC, Meyers JL, Zhang Y et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 99 : 2281-2286, 2002 6)Beignon A-S, Mckenna K, Skoberne M et al : <i>J Clin Invest</i> 115 : 3265-3275, 2005
パラミクソウイルス科 (Paramyxoviridae)	一本鎖RNA (-)	マウス乳癌ウイルス (MMTV)	TLR4	7)Bleback K, Lien E, Klage IM et al : <i>J Virol</i> 76 : 8729-8736, 2002
		ヒト免疫不全ウイルス (HIV)	TLR 7/8	8)Nakatsu Y, Takeda M, Ohno S et al : <i>J Virol</i> 80 : 11861-11867, 2006 3), 10), 11)に記載
		麻疹ウイルス (MV)	TLR2, RIG-I	9)Kurt-Jones EA, Popva L, Kwinn L et al : <i>Nat Immunol</i> 1 : 398-401, 2000
		ニューカッスル病ウイルス (NDV)	RIG-I, MDA5	10)Melchjorsen J, Jensen SB, Malmagaard L et al : <i>J Virol</i> 79 : 12944-12951, 2005
		RSウイルス (RSV)	TLR4	11)Andrejeva J, Childs KS, Young DF et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 101 : 17264-17269, 2004
		センダイウイルス (SeV)	TLR 7/8, RIG-I, MDA5	12)Le Goffic R, Pothlichet J, Vitour D et al : <i>J Immunol</i> 178 : 3368-3372, 2007 3), 14)に記載
オルトミクソウイルス科 (Orthomyxoviridae)	一本鎖RNA (-)	A型インフルエンザウイルス (IAV)	TLR3, TLR7/8, RIG-I	13)Georgel P, Jlang Z, Kunz S et al : <i>Virology</i> 362 : 304-313, 2007
ラブドウイルス科 (Rhabdoviridae)	一本鎖RNA (-)	水痘性口内炎ウイルス (VSV)	TLR4, TLR7/8, RIG-I	14)Lund JM, Alexopoulou L, Sato A et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 101 : 5598-5603, 2004 15)Pichlmair A, Schulz O, Tan CP et al : <i>Science</i> 314 : 997-1001, 2006
レオウイルス科 (Reoviridae)	二本鎖RNA	ロタウイルス (RV-A) など	TLR3	16)Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R et al : <i>Nature</i> 413 : 732-738, 2001
アデノウイルス科 (Adenoviridae)	二本鎖DNA	アデノウイルス (AdV)	未知のDNALセプター, Nalp3	17)Nociari M, Ocheretina O, Schoggins JW et al : <i>J Virol</i> 81 : 4145-4157, 2007
ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae)	二本鎖DNA	単純ヘルペスウイルス1型 (HSV1)	TLR2, TLR9, 未知のDNALセプター	18)Kurt-Jones EA, Chan M, Zhou S et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 101 : 1315-1320, 2004 19)Lund J, Sato A, Akira S et al : <i>J Exp Med</i> 198 : 513-520, 2003 23)に記載
		単純ヘルペスウイルス2型 (HSV2)	TLR9	19)に記載
		EBウイルス (EBV)	PKR, RIG-I (EBERの一本鎖RNA)	20)Samanta M, Iwakiri D, Kanda T et al : <i>EMBO J</i> 25 : 4207-4214, 2006 21)Hahn AM, Huye LE, Ning S et al : <i>J Virol</i> 79 : 10040-10052, 2005 2)に記載
		ヒトサイトメガロウイルス (HCMV)	TLR3, 未知のDNALセプター	22)Tabeta K, Georgel P, Janssen E et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 101 : 3516-3521, 2004 23)Shih KJ, Akira S. <i>Trends Immunol</i> 27 : 525-532, 2006
		マウスサイトメガロウイルス (MCMV)	TLR9	22)に記載
ポックスウイルス科 (Poxviridae)	二本鎖DNA	ワクシニアウイルス (VV)	PKR, TLR2, TLR3	24)Harte MT, Haga IR, Maloney G et al : <i>J Exp Med</i> 197 : 343-351, 2003 25)Stack J, Haga IR, Schroder M et al : <i>J Exp Med</i> 201 : 1007-1018, 2005 2)に記載

PRRs, pattern-recognition receptors ; PKR, dsRNA-dependent protein kinase ; RIG-I, retinoic acid-inducible gene 1 ; RV-A, Rotavirus A ; MDA5, melanoma differentiation-associated gene 5 ; TLR, Toll-like receptor.

一方で、核酸認識受容体の他にもウイルス感染に関与する PRRs としてウイルスエンベロープタンパク質などを認識する TLR4 を挙げることができる。そして、ウイルス感染によって活性化されるこれらの PRRs に共通して認められることは、その下流において、抗ウイルス作用や免疫賦活作用を示す I 型 IFN の遺伝子発現誘導が行われることである。以下、ウイルス関連 PRRs のなかで核酸認識受容体に焦点を合わせて概説する。

(1)核酸認識受容体

- a) RNA センサー ----- (i)エンドゾームに局在するもの : TLR3, TLR7/8
(ii)細胞質に局在するもの : RIG-I, MDA5, Lgp2
- b) DNA センサー ----- (i)エンドゾームに局在するもの : TLR9
(ii)細胞質に局在するもの : DAI(DLM-1/ZBP1)

a) RNA センサー

(i) TLR3, TLR7/8

TLR3 はエンドゾームにおいて二本鎖 RNA のセンサーとして機能することが知られているが、おそらく細胞死を誘導した感染細胞を貪食細胞が取り込んだ後に、エンドゾームに遊離したウイルス由来の二本鎖 RNA を感知するものと考えられる。TLR3 を活性化するウイルスには A 型インフルエンザウイルスやレオウイルス科に属するウイルスが報告されている。その他、West Nile virus (WNV)や Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV)によるサイトカイン産生誘導も TLR3 が関与していることが報告されている。一方で、ウイルス由来の一本鎖 RNA をエンドゾームにおいて認識する受容体と考えられているものに TLR7(マウス)や TLR8(ヒト)が挙げられる。一本鎖 RNA ウイルスである Human immunodeficiency virus (HIV)や SeV, A 型インフルエンザウイルスがこの TLR7/8 を介して感知される。

(ii) RIG-I, MDA5, Lgp2

RIG-I/MDA5 は細胞質に局在するタンパク質であることから細胞質でウイルスのゲノムから複製や転

写が起こることで生じた RNA を感知すると考えられていた。RIG-I と MDA5 では RNA の認識特異性が異なっており、ともに二本鎖 RNA の結合能は有しているが、MDA5 がとくに長い二本鎖 RNA (3kbp 以上) に対する結合能が強いのにに対し、RIG-I は短い二本鎖 RNA (1kbp 以下) に対する結合能が強い³⁾。さらに RIG-I は 5' 側が三リン酸化した一本鎖 RNA (5'-triphosphate RNA) に対する結合能を有しているのも特徴である⁴⁾。したがって、認識されるウイルスの種類も異なっており(表 2)、線維芽細胞や cDCs (conventional dendritic cells) においては NDV や SeV、vesicular stomatitis virus (VSV)、RSV、インフルエンザウイルス、C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus; HCV) による I 型 IFN 産生誘導は RIG-I 依存性であり、encephalomyocarditis virus (EMCV) や日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus; JEV) の場合は MDA5 に依存している^{5,6)}。インフルエンザウイルスの場合、一本鎖 RNA (5'-triphosphate RNA) を RIG-I が認識することを示唆する結果が報告されており³⁾、このことは以前からインフルエンザウイルスの感染細胞において二本鎖 RNA が検出されない事実と一致する。また、EMCV 感染細胞では、おそらくゲノムの複製中間体由来と思われる長さ 2kb の二本鎖 RNA が検出されるのに対し、VSV 感染細胞では、1kb の短い二本鎖 RNA が検出され、各々、MDA5 と RIG-I が優位な受容体として認識することも示されている³⁾。VSV 感染細胞において検出される短い二本鎖 RNA はゲノムの複製中間体というよりはおそらく defective interfering (DI) particles 由来のものと考えられている³⁾。このようにウイルスが感染した際に生じる二本鎖 RNA の長さおよび一本鎖 RNA (5'-triphosphate RNA) の割合の違いによって関与するセンサーが異なるものと考えられる。Dengue virus type 2 や reovirus 感染による IFN 応答において RIG-I と MDA5 はともに redundant な役割を担っている⁶⁾。様々な種類の RNA ウイルスの感染に対応できるように RIG-I や MDA5 が互いに機能的に役割を進化させてきたものと考えられる。

RIG-I と MDA5 はともに共通したアダプター分子である IPS-1 を介してシグナルを伝え、NF- κ B および IRF 経路を活性化する。最近、RIG-I タンパク質の修飾が RIG-I を介する抗ウイルス応答シグナルを調節することについて報告された⁷⁾。E3 ユビキチンリガーゼである TRIM (tripartite motif) 25 が RIG-I の N 末端の CARD (caspase recruitment domain) 領域に会合することで、Lys63 を介するユビキチン化を起し、その結果、RIG-I を介する I 型 IFN 産生誘導が促進される⁷⁾。

一方、形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DCs; pDCs) においては線維芽細胞や cDCs とは異なり、RIG-I や MDA5 依存的な細胞質内の経路よりも TLR 系が優位である⁵⁾。実際に pDCs はインフルエンザウイルスや VSV、SeV などに対して、RIG-I を介する線維芽細胞とは異なり TLR7/8 を介して I 型 IFNs などの細胞応答を引き起こすことが知られている。おそらくウイルス感染が成立せず、細胞内へのウイルスは移行できないため、エンドゾームにおいて TLR7/8 に認識されて、自然免疫応答が活性化することが考えられていた。しかし、特定のウイルスは pDCs の細胞質内で複製が起きていることを示唆するものもあり、オートファジーを介してエンドゾームへ移行する経路の存在も示されている(後述)。しかし、NDV による肺の局所感染時では肺胞マクロファージや cDCs が主体となり、RNA ウイルスによる感染のルートの違いによっては pDCs は I 型 IFN 産生誘導に関与しない場合もある⁸⁾。

RIG-I と相同性のあるヘリカーゼドメインを保持し、シグナルを伝達する CARD ドメインが欠如している Lgp2 (laboratory of genetics and physiology 2) という分子が同定されているが(図 1)、その構造的な特徴から RIG-I や MDA5 の働きに対して負の制御作用を示すことが考えられていた。実際に、Lgp2 は二本鎖 RNA を結合し、過剰発現させることで SeV や NDV による I 型 IFN 誘導や NF- κ B 経路の活性化が阻害される。その機序としては、Lgp2 がおそらく二本鎖 RNA を sequester してしまうことが考えられていたが、RIG-I の多量体化に必要な領域である RD (repressor domain) が Lgp2 自体にも存在しており、これを介して Lgp2 は RIG-I に結合することで RIG-I の homotypic な会合を阻害するメカニズムも存在

することも報告されている⁹⁾。これを裏付ける結果が、最近の Lgp2 遺伝子欠損マウスの解析から示唆されている¹⁰⁾。すなわち、RIG-I が優位な認識受容体となる VSV 感染に対しては、Lgp2 遺伝子欠損マウス由来の線維芽細胞(mouse embryonic fibroblasts; MEFs)における I 型 IFN 産生は野生型 MEFs に比べ増強するが、MDA5 が主たる受容体となる EMCV 感染においては野生型 MEFs と同じように I 型 IFN は産生される。Lgp2 遺伝子欠損マウス由来のマクロファージでは野生型細胞に比べ、むしろ I 型 IFN 産生が低下する。このような結果は、Lgp2 はとくに RIG-I に対して負の制御を示すが、単に負の制御因子としてのみの役割ではなく、ウイルスの種類によっては抗ウイルス応答に関わっている可能性が示唆されている¹⁰⁾。

b) DNA センサー

(i) TLR9

最もはじめに同定された DNA センサーは TLR9 である。TLR9 は膜型の受容体であり、主にエンドゾームにおいて、微生物由来のゲノム DNA に特徴的にみとめられる非メチル化 CpG モチーフを認識する。通常の特異的な配列の二本鎖 DNA の認識に関してはまだ議論があるところである。この TLR9 は前項で説明した TLR7/8 と共にその活性化は大量の IFN の産生誘導を引き起こすことが知られている。しかもこのような現象は pDCs に特化しており、TLR7/8/9 を発現しているマウスの cDCs においては大量の IFN の産生誘導はみとめない。実際に pDCs においてはアデノウイルス (Adenovirus; AdV) や単純ヘルペスウイルス 1 型及び 2 型 (herpes simplex virus 1, 2; HSV-1, HSV-2)、マウスサイトメガロウイルス (mouse cytomegalovirus; MCMV) などが TLR9 を介して自然免疫応答を引き起こす。また、TLR9 リガンドとして知られている CpG-A と CpG-B とでは、CpG-A の場合のみに pDCs において大量の IFN の産生誘導を引き起こし、CpG-B による刺激ではそれがみとめられない。

このような pDCs に特化した大量の IFN の産生誘導に TLR9 シグナルの時空間的な制御機構が存在していることを示唆する結果が示されている。TLR9 による I 型 IFNs 遺伝子の発現誘導は TLR7/8 と同様であり、MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88) およびその下流の TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) や IRF-7 をはじめ、IRF-7 と会合し、活性化に関わるキナーゼとして考えられている IKK α (I κ B kinase α) や IRAK1 (IL-1 receptor associated kinase 1) が含まれた、おそらく MyD88 を中心としたシグナル複合体を介していることが予想されている。CpG-B は刺激後すぐにリゾゾームへ移行するのに対し、CpG-A と TLR9 の複合体はリゾゾームへ移行せずにエンドゾームに長時間滞在し、エンドゾームにおいて MyD88 を中心とした IRF-7 を含むシグナル複合体の活性化が持続することが大量の I 型 IFNs 産生のための必要条件であることが示されている。

それでは、なぜ CpG-A と CpG-B とでこのような動態の差が生じるのか？ --- その理由は未だ明らかではないが、少なくとも 2 つの推測がなされている。1 つはそれぞれのリガンドで形成される複合体のサイズの違いである。すなわち、CpG-A は CpG-B よりも大きな複合体を形成するためにリゾゾームへの移行が妨げられる可能性が考えられている。実際に、IFN の高産生を示さない CpG-B は、陽イオン性の脂質化合物である DOTAP (1,2-dioleoyl-3-trimethylammoniumpropane) と複合体を形成させて pDCs を刺激した場合、エンドゾームに長時間停滞し、CpG-A に匹敵する高いレベルの IFN- α 産生がみとめられた。しかしながら、この機序のみでは、cDCs において、CpG-A のみによる IFN の高産生がみられない理由や CpG-B と DOTAP の複合体にしても IFN の高産生誘導しない理由を説明できない。おそらく CpG-A と CpG-B による IFN 応答の違いは pDCs と cDCs によるその違いを必ずしも同じメカニズムでは説明できないものと考えられる。そこでもう一つの理由として、CpG-A に対しては TLR9 以外に pDCs のエンドゾームに共受容体あるいは共因子が存在するために、エンドゾームに停滞する可能性も考えられている。これも DOTAP を用いると cDCs においても CpG-A がエンドゾームに留まるよう

になり、IFN が高産生される理由が説明できない。少なくともエンドゾームにおいて MyD88-IRF-7 のシグナル活性化が持続するという時空間的な制御があることは確かであるが、その機序の解明は今後の興味深い課題と考えられる。これに関連して、細胞内に存在するオステオポンチン (intracellular osteopontin; Opn-i) が T-bet 依存性に pDCs に特異的に発現することが知られており、この Opn-i が TLR9 活性化の際に MyD88 と共局在することが示され、pDCs での IFN 産生経路に選択的に関与していることが最近報告されている¹¹⁾。

このエンドゾームは、必ずしも細胞外から取り込んだウイルスやPAMPsのみに応答するシグナルの場を形成しているのではないことを示唆する報告もある。一本鎖RNAウイルスであるVSVの場合、マウス pDCs においては細胞質に存在するVSV由来の複製中間産物をエンドゾーム内へ移送し、TLR7を介するシグナルを誘導することが示されている¹²⁾。しかも細胞質からエンドゾームへの移送にはオートファゴゾームを介するという興味深いメカニズムによる。pDCs においてTLR9依存性応答を引き起こすHSVやMCMVなどのDNAウイルスの場合、同様のオートファジー依存的経路の関与は否定できないものも、IFN応答の発現にウイルス複製過程が不要であることからその関与は低いものと予想される。しかし、オートファジーの機構が、ヘルペスウイルスやシンドビスウイルスに対する免疫応答やウイルス複製に関与していることが報告されており、とくにpDCs以外の細胞における関連性については今後の課題と考えられる。一方で、細胞質RNA認識に関わるRIG-I経路においてはオートファジー過程に重要な因子であるAtg5-Atg12複合体がRIG-IやIPS-1に会合し、I型IFNs産生誘導に対して抑制的作用することが報告されている¹³⁾。

一方、細胞質に微生物由来の DNA が存在した場合に、センサーとして働く分子は何であるか？実際に、2つのグループにより^{14,15)}、B型のDNA立体構造を取りやすい poly(dA:dT)・poly(dT:dA)(以下、B-DNA)や45塩基から成るISD (IFN-stimulatory DNA)といった合成DNAをはじめ、DNAウイルスであるHSVやHCMV由来のゲノムDNAを細胞質にトランスフェクトすることで、TBK1 (TANK-binding kinase 1)やIKK ϵ /i (Inducible I kappa-B kinase)のキナーゼおよびIRF-3転写因子に依存性の経路を介して、I型IFN遺伝子の発現誘導が起こることが示されており、何らかのDNAセンサーの存在が示唆されていた。しかしながらその実体は明らかにされていなかった。一方、これらの2つのグループが示している細胞質に投与したDNAが引き起こす応答は、NF- κ BやMAPキナーゼの活性化という点で相違がある(すなわち、B-DNAによる刺激の場合は両者の活性化がみとめられるが、ISDによる刺激では共に活性化されない)。この点において両者が細胞質DNAによる同一の活性化経路の存在を示しているとは限らないが、これまでの報告では、TLR9を含めた各種TLRsをはじめ、RIG-I/MDA5およびNOD1/NOD2といった既知のPRRsには非依存性であることが示されている^{14,15)}。また、脾臓由来のpDCsはDNAウイルスであるHSV-1に対して、TLR9依存的にI型IFN発現誘導を引き起こすが、骨髄由来のpDCsでは、TLR9非依存的経路も存在することが示されていた。さらに上述したオートファジーを介したエンドゾームへの移送によりエンドゾームが認識の場所である可能性は否定できないものの、エンドゾーム内での酸性化阻害剤であるクロロキンをを用いても細胞質DNA投与に対するサイトカイン応答は障害されないことから、その可能性は低いと考えられる¹⁵⁾。

(ii) DAI (DLM-1/ZBP1)

昨年、IFN誘導遺伝子の中から細胞質DNA認識に関与することが予想されるDAI (DNA-dependent activator of IRFs)が同定された¹⁶⁾。既知の分子であり、腫瘍間質に存在するマクロファージに発現増強する遺伝子として最初にDLM-1という名前でクローニングされた。その後、この分子のN末端にZ型DNA結合領域(図1、Z α およびZ β ドメイン)が存在していることが見出されたが、その他の領域は既存のどのモチーフとも相同性がなく、その機能や役割については明らかではなかった。今回、細胞質

DNA センサーのひとつの候補分子としての役割が示された。実際に DAI は細胞質に局在しており、B-DNA との直接的な会合も示された^{16,17)}。DAI 分子が B-DNA との結合に関与する領域は $Z\alpha$ や $Z\beta$ ドメインよりも C 末端側に存在する 80 アミノ酸ほどの領域(図 1 : D3)が主な DNA 結合領域であるが、下流シグナルの活性化には $Z\alpha$ 、 $Z\beta$ 、D3 の3つのドメインが必要である¹⁷⁾。さらに DAI はその C 末端の約 100 アミノ酸に相当する領域(TBK1/IRF-interacting domain; TID)を介して、I 型 IFN 発現誘導に必要な TBK1 キナーゼおよび IRF-3 転写因子と DNA 刺激依存性に結合する¹⁶⁾。また、DAI 分子は DNA 刺激に伴って多量体を形成することで下流のシグナル伝達を行うことを示唆する結果も示されている¹⁷⁾。さらに DAI 分子はおそらく TBK1 によってリン酸化の修飾を受けることで活性化されることも示されている。DAI の TID ドメインに存在する、最もリン酸化される可能性の高い 352 および 353 番目のセリンをアラニンに変換させた変異体では、TBK1 や IRF-3 との会合が抑制された¹⁷⁾。このように細胞質 DNA と結合することで DAI が活性化され、I 型 IFNs および NF- κ B 活性化の誘導を引き起こす。実際に DAI はどのような種類の DNA ウイルスに対してセンサー分子として機能するか? --- Vaccinia ウイルス (vaccinia virus; VV)や HSV-1 による感染での関与を示唆する結果が示されているが、遺伝子欠損マウスなどを用いた今後の解析が必要であると考えられる。

それでは DAI 以外にも細胞質 DNA を認識する受容体は存在するのだろうか? --- siRNA (small interfering RNA)を用いた実験では、顕著に DAI の発現レベルが抑制されているにも関わらず、L929 細胞での細胞質 B-DNA に対する IFN 産生誘導の抑制が部分的であること¹⁶⁾ や、MEFs ではほとんど siRNA の影響がみとめられなかったことから、DAI は細胞種特異的な働きを示す可能性が示唆される。さらに最近、審良氏のグループが DAI の遺伝子欠損マウス由来の細胞における B-DNA 刺激による IFN 産生は野生型細胞と比較して差がみとめられないという結果を報告していることから¹⁸⁾、その他の DNA センサーの存在を強く示唆している。

一方で、細胞質に DNA が存在することによって引き起こされる新しい経路も最近報告されている¹⁹⁾。DNA ウイルスであるアデノウイルスや HSV 感染により NLRs (NOD-like receptors)ファミリーメンバーである NALP3 (cryopyrin/NLRP3)やそのアダプター分子である ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)から構成されるインフラマゾームを介して caspase-1 の活性化および pro-IL-1 β の成熟を誘導するという経路である。この経路はウイルスなどの微生物や哺乳類由来の DNA を、リポゾームと複合体をつくって細胞質へ投与した場合にも引き起こされるが、この場合は ASC 依存性ではあるが、NALP3 非依存性であり、他の NLR ファミリーメンバーの関与が考えられている。いずれの場合もこのインフラマゾームを介する経路は I 型 IFN 発現を誘導しないため、前述している TBK1-IRF-3 を活性化する経路とは全く別のものであると考えられる。

(2)その他の自然免疫におけるウイルス認識受容体

細菌由来の LPS をリガンドとすることで知られている TLR4 はウイルス感染においても関与している。たとえば、RSV の F タンパク質をはじめ、マウスのレトロウイルスである MMTV や MLV のエンベロープタンパク質が TLR4 を介して認識されることが報告されている。さらに、Coxsackie virus B4 感染によるサイトカイン産生誘導も TLR4 依存的な経路によるものであることから特定のウイルス感染では TLR4 シグナルの重要性が示唆されている。実際に TLR4 の下流において TRAM(TICAM-2)および TRIF(TICAM-1)というアダプターを介してその下流で IRF-3 が活性化されて IFN- β 遺伝子の発現誘導がみとめられる。

3. ウイルスによる自然免疫系阻害機構

宿主応答に対抗するためのウイルスによる免疫回避機構は自然免疫系においてもその標的となっている。このことは逆に宿主にとって自然免疫系のウイルス感染に対する重要性を浮き彫りにしている。なかでも多くのウイルスは様々な戦略で IFN 系をターゲットとしている。

I 型 IFN 受容体は ubiquitous に発現しており、その下流で様々な IFN 誘導遺伝子が発現誘導され、細胞は抗ウイルス状態を獲得する。またすでにウイルスに感染している細胞はアポトーシスを誘導することでさらなるウイルスの拡散を防止する。そのため、ほとんどのウイルスの増殖にとってこのような I 型 IFN の作用は障害となり、ウイルス側は I 型 IFN の産生過程をはじめ、IFN シグナル伝達といった IFN システムに対して独自の阻害戦略を進化させている。

図2 (a)

ウイルス	タンパク質	作用部位	文献
(1) PRRリガンドの隔離			
インフルエンザウイルス	NS1	RIG-I と会合し機能を阻害	Kato H, Takeuchi O, Sato S et al : <i>Nature</i> 441 : 101-105, 2006 Pichlmair A, Schulz O, Tan CP et al : <i>Science</i> 314 : 997-1001, 2006
痘毒(天然痘)ウイルスや ワクシニアウイルス、牛痘ウイルス などオルソポックス属のウイルス	E3L	ウイルス由来の二本鎖RNAを結合し、 PKRや2,5'OASなどの抗ウイルス活性をもつタンパク質を阻害	Kim YG, Lowenhaupt K, Oh DB et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 101 : 1514-1518, 2004
(2) PRRs 自体の阻害			
パラミクソウイルス科 (パラインフルエンザウイルス、 麻疹ウイルス、センダイウイルスなど)	V protein	MDA5と会合し機能を阻害	Andrejeva J, Childs KS, Young DF et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 101 : 17264-17269, 2004
(3) PRRs を介するシグナル伝達経路に関わる分子を阻害			
A型肝炎ウイルス	3ABC	IPS-1/MAVS/VISA/Cardif を切断	Yang Y, Liang Y, Qu L et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 104 : 7253-7258, 2007
C型肝炎ウイルス	NS3/NS4A	TRIF と IPS-1/MAVS/VISA/Cardif を切断	Saito T, Hirai R, Loo YM et al : <i>Proc Natl Acad Sci</i> 104 : 582-587, 2007 Meylan E, Curran J, Hofmann K et al : <i>Nature</i> 437 : 1167-1172, 2005
ワクシニアウイルス	NS5A	MyD88と結合しIRAK1の活性化を阻害	Abe T, Kaname Y, Hamamoto I et al : <i>J Virol</i> 81 : 8953-8966, 2007
	N1L	主にTBK1を阻害	DiPerna G, Stack J, Bowie AG et al : <i>J Biol Chem</i> 279 : 36570-36578, 2004
	A46R	MyD88, TRIF, TRAMなどTIRFメインを 持ったアダプターを阻害	Stack J, Haga IR, Schroder M et al : <i>J Exp Med</i> 201 : 1007-1018, 2005
ヒトヘルペスウイルス8型 (カポジ肉腫ウイルス)	A52R	IRAK2や, TRAF6と会合して、多くのTIR 下流のNF- κ Bの活性化を阻害	Harte MT, Haga IR, Maloney G et al : <i>J Exp Med</i> 197 : 343-351, 2003
	ORF45	IRF7と結合し、機能を阻害	Moore PS, Chang Y : <i>Annu Rev Microbiol</i> 57 : 609-639, 2003
エボラウイルス	vIRF-1	IRF-1やIRF-3, IRF-7の転写因子の 活性を阻害	Moore PS, Chang Y : <i>Annu Rev Microbiol</i> 57 : 609-639, 2003
	VP35	機序不明であるが、 IRF-3, PKRの活性を阻害する	Hartman AL, Bird BH, Towner JS et al : <i>J Virol</i> 82 : 2699-2704, 2008

図2 ウイルスによる自然免疫系の阻害機構
(a)細胞膜型PRRsおよび細胞質型PRRsとそれらを介する自然免疫シグナル経路を模式的としたウイルスによる阻害機構について、3つのプロセスに分類して関与する主要なウイルスタンパク質についてその簡単な作用機序とともに挙げています。

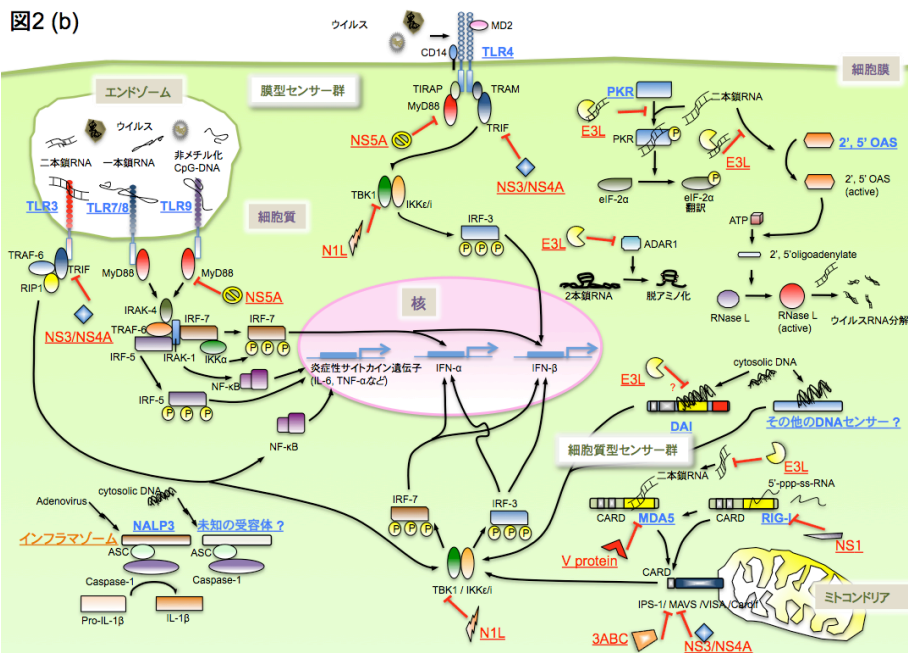


図2 ウイルスによる自然免疫系の阻害機構
(b)これらのウイルスタンパク質7つ(赤字)について様々なシグナル経路における作用点を簡略化して示してある(詳細は本文参照)。
PKR, Protein kinase, double-stranded RNA-dependent; 2,5'OAS, 2,5'-oligoadenylate synthetase.

上述したように、ウイルスが関与するほとんどすべての PRRs の下流では I 型 IFNs 遺伝子の発現誘導が起こることから、ウイルスによる戦略を以下の3つに分けて考えることができる(図 2(a), (b))

(1) PRR リガンドの隔離

(2) PRRs 自体の阻害

(3) PRRs 下流のシグナル分子の阻害

以下に、各々について代表的なウイルスタンパク質を例に挙げて説明する。

(1) PRR リガンドの隔離

PRR の活性化を起こさないように、リガンド自体を隔離するという戦略である。インフルエンザウイルスのウイルスタンパクである NS1(nonstructural protein 1)タンパク質はウイルス由来の二本鎖 RNA と結合し、PKR や 2'-5'OAS(oligoadenylate synthetase)の活性化を阻害すると報告されていたが、実際にはインフルエンザウイルスの感染時に二本鎖 RNA は検出されず²⁰⁾、さらに Sousa らのグループの実験では、二本鎖 RNA が検出される他のウイルスの感染での IFN 産生に対して、NS1 は阻害作用がないことが示されている。NS1 による IFN 産生の阻害作用は、選択的に RIG-I に会合することで(MDA5 には会合しない)、RIG-I のインフルエンザウイルスゲノム由来の 5'-三リン酸化一本鎖 RNA との結合を拮抗することに基づいていると報告された²⁰⁾。しかし、NS1 タンパク質は感染初期には核内に蓄積され、後期になって核と細胞質に分布するという動態から考えると、上述したメカニズム以外に IFN 産生を抑制する主要なメカニズムが存在するのかも知れない。実際に、U6 snRNA との結合による宿主の mRNA スプライシング機構の阻害、宿主の 3'poly(A) tail との結合による polyadenylation あるいは mRNA の核外移送の阻害、さらにはウイルスの mRNA の 5'非翻訳領域および eukaryotic initiation factor 4GI (eIF4GI) との結合による翻訳開始の促進といった多彩な作用が報告されている。一方、痘瘡(天然痘)ウイルスやワクシニアウイルス、牛痘ウイルスが含まれるオルソポックス属のウイルスは共通して E3L タンパク質を発現する。E3L は N 末端に Z 型 DNA 結合ドメイン(Z-DBD)を、C 末端側に二本鎖 RNA 結合ドメイン(DRBD)を1つずつ有している。E3L はウイルスの病原性に密接に関与することが示されており、その機序のひとつとして E3L の DRBD はウイルス由来の二本鎖 RNA を結合させてしまうことで、二本鎖 RNA によって活性化する PKR や 2',5'OAS などの抗ウイルス活性をもつタンパク質を阻害することが知られている。報告はないが、おそらく RHR ファミリーメンバーの活性化阻害作用を示す可能性も考えられる。一方で、Z-DBD は DAI(DLM-1/ZBP1)の Z α ドメインと相同性があり、DAI の活性化を障害する可能性が示唆される。実際に E3L を高発現させることで B-DNA による IFN- β の発現誘導が部分的に抑制された¹⁷⁾。E3L や DAI と同様に Z-DBD を有しているタンパク質として ADAR1(adenosine deaminase that acts on double-stranded RNA 1)が知られている。ADAR1 は N 末端側には2つの Z-DBD と引き続き、3つの DRBD が存在している。さらに deaminase 活性ドメインがあり A-to-I への RNA editing 作用をもっている。ADAR1 の発現は DAI と同様に IFN 誘導性であり、たとえばポリオーマウイルスやデルタ型あるいは C 型肝炎ウイルスなどの感染時にウイルスゲノム RNA に対して editing による変異を導入することでウイルス複製を阻害する。同様なドメインをもつ E3L は ADAR1 の deaminase 活性を抑制することも報告されている。

(2) PRRs の阻害

SeV や SV5(Sarcoma Virus5)、パラインフルエンザウイルス(parainfluenza virus; PIV)、麻疹ウイルス(measles virus)などのパラミキソウイルス科 (Paramyxoviridae)に属する多くのウイルスが発現している V タンパク質は、MDA5 と会合することでその機能を阻害する。一方で、パラミキソウイルスの多くは、MDA5 ではなく RIG-I が主要なセンサーとして認識される。しかしながら、RIG-I を介する IFN 産生が主体となることが考えられる cDCs やマクロファージにおいて SeV 感染による IFN 産生は認められない。

一方、Cタンパク質を欠失させた SeV 変異株による感染では IFN の産生がみとめられるようになる⁸⁾。これまで、SeV の Cタンパク質は Stat1 や Stat2 のリン酸化あるいは脱リン酸化障害、または Stat1 タンパク質の安定性を阻害することで IFN シグナル伝達を阻害することが報告されてきたが、一方で、センサーである RIG-I のシグナル自体に対する抑制作用も報告されている²¹⁾。

(3) PRRs を介するシグナル伝達経路に関わる分子の阻害

C型肝炎ウイルス(hepatitis C virus; HCV)の NS3/4A からつくられるセリンプロテアーゼの作用により、二本鎖 RNA に対する2つの主要なセンサー分子を介するシグナル伝達をブロックする。その標的となるのは、RIG-I および MDA5 を介するシグナルに共通するアダプター分子である IPS-1 /MAVS /VISA /Cardif と、TLR3 のアダプターである TRIF/TICAM-1 であり、ともにその下流が IRF-3/7 転写因子を介する I 型 IFN 遺伝子発現誘導経路につながる。同様に A型肝炎ウイルスの 3ABC タンパク質は IPS-1 /MAVS /VISA /Cardif を分解することが報告されている。さらに HCV の NS5A は ISDR(IFN-sensitivity-determining region)領域を介して MyD88 アダプター分子の death ドメインと会合し、IRAK1(interleukin-1 receptor-associated kinase 1)の MyD88 へのリクルートを妨げることで、TLR-MyD88 シグナルを阻害する。

エボラウイルス(Ebola virus; EBOV)の VP35 タンパク質は IRF-3 や PKR の活性化を阻害する。詳細な阻害機序はまだ明らかではないが、ウイルスゲノムの転写や複製時の ribonucleoprotein 複合体形成に重要な役割を果たしている VP35 は、C 末端にある RNA 結合活性に必要な領域を介して VP35 の IRF-3 阻害効果を発現する²²⁾。一方、PKR に対する阻害作用はこれとは別のメカニズムによる。また、EBOV の VP24 はチロシンリン酸化された Stat1 の核移行シグナル受容体である karyopherin- α 1 と特異的に結合することにより、Stat1 と karyopherin- α 1 との会合を妨げ、結果として Stat1 の核移行が行われなくなり、I 及び II 型の IFN シグナルが阻害される²³⁾。

IRF 転写因子がターゲットとなる場合もある。ヒトヘルペスウイルス 8 型(HHV-8 または、Kaposi's sarcoma herpes virus; KSHV)のウイルスタンパク質である vIRF-1 は IRF-1 や IRF-3、IRF-7 の転写因子の活性を阻害し、IFN- α/β をはじめ、CCL5 (RANTES, Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted)や CXCL10 (IP-10; interferon- γ -inducible protein-10 kDa)などの IRF 依存性の遺伝子発現を抑制する。また HHV-8 の ORF45 は IRF-7 と結合することで IRF-7 のリン酸化および核移行を阻害する。

ワクシニアウイルス(VV)の N1L は主に IRF のキナーゼである TBK1 と会合することで活性化を阻害し、IRF-3/7 を介する IFN 産生を阻害する。また IKK 複合体に作用して NF- κ B の活性化阻害を引き起こすことも考えられている。一方で、N1L はアポトーシス誘導因子である Bad, Bax and Bid などに結合することでアポトーシスを阻害し、宿主の抗ウイルス応答から回避する²⁴⁾。また、VV の A46R は、TIR(Toll/IL-1 receptor)ドメインを有した唯一のウイルスタンパク質であり、MyD88 をはじめ、TRAM(TICAM-2)、TRIF(TICAM-1)と会合し、NF- κ B 経路や IRF-3 経路の活性化を阻害する。さらに VV の A52R は IRAK2 (interleukin 1 receptor-associated kinase 2) や TRAF6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6)と会合し、おそらくこれらの分子を標的とすることで多くの TLRs 下流の NF- κ B の活性化を阻害すると考えられている。

4. ウイルス感染における PRR シグナルの役割

(1) PRRs の遺伝子欠損マウスの感染実験からの推察

ウイルス感染における PRR シグナルの役割はこれまで多くの PRRs の遺伝子欠損マウスを用いて行

われてきた感染実験の研究から伺い知ることができる。HSV-2による膣内感染においてその感染防御には初期に局所のpDCsが働くことで、TLR9依存性に産生されるI型IFNsが重要な役割を担っている。HSV-1によるfootpadなどへの局所感染に対する防御にはTLR9およびMyD88に非依存性のシグナルが重要である。このようなDNAウイルスによる感染に対するDAIなどの細胞質DNAセンサーの役割は今後の課題と考えられる。

RNAウイルスに対しては、細胞内のRNA受容体であるRIG-IやMDA5欠損マウスでは各々、JEV感染とEMCV感染に対する抵抗性が低下する。このようにウイルスの種類によって特徴的なPAMPs(たとえば二本鎖RNAの長さ)に対して主体的に認識するPRRsの種類が決まってくるため、そのPRRsに依存した免疫応答が活性化されることになる。しかし、1つのウイルスから由来するPAMPsは複数であり、かつ宿主細胞の種類によってPRRsの発現パターンや使われ方に違いがあるため、ウイルスの感染ルートや感染後の経過時期によっても活性化されるPRRsの種類が異なってくる。たとえば、I型IFNの発現をGFP(Green fluorescence protein)でモニターできるノックインマウスを用いた最近の研究によると⁸⁾、経静脈的にNDVを全身感染させた場合、IFN産生の多くは脾臓に存在しているpDCsによるTLR-MyD88経路に依存しているが、一方、感染早期ではcDCsやマクロファージによるRLR-IPS-1経路依存性のIFN産生誘導も行われていることが示されている。しかし経鼻的なNDVなどの肺局所感染の場合のIFN産生は、通常、肺胞マクロファージやcDCsが担っており、これらの細胞が障害を受けた場合やあるいはRLR-IPS-1依存性のIFN産生誘導のシグナル経路を阻害するようなウイルス感染(センダイウイルスなど)の場合にのみpDCsを介したIFN産生が起こる⁸⁾という巧妙な感染防御のしくみが存在しているようである。

一方、TLR3遺伝子欠損マウスはEMCVやMCMV、RSVに対しては少なからず抵抗性を示すことからTLR3シグナルがその防御の何らかの局面に関与していると考えられる。一方、lymphocytic choriomeningitis virus(LCMV)、VSVおよびreovirus感染に対しては野生型マウスと全く同様の抵抗性を示す。逆にWNVやインフルエンザAウイルス、フレボウイルス、Punta Toroウイルスによる感染に対しては、TLR3遺伝子欠損マウスは野生型マウスよりも抵抗性が増強する。このようにウイルスの種類によっては活性化されたTLR3を介して誘導されるサイトカインが病原体の排除に働く一方で、組織障害や全身状態などに悪影響を及ぼす可能性も考えられている。最近、インフルエンザウイルス感染による死因は、ウイルス自体による障害性ではなく、ウイルス感染に対して過剰に活性化された免疫異常が主たる原因であることが報告されている²⁵⁾。またとくにRIG-Iの負の制御因子として知られているLgp2の欠損マウスは、RIG-I依存性の応答を示すVSV感染では予想より抵抗性を示すが、MDA5依存性の応答を示すEMCV感染では逆に感受性が高まる。このようにウイルス感染におけるPRRsの役割は様々な要因によって複雑に影響を受けると考えられる。上述した各種遺伝子欠損マウスを用いた感染実験の結果は、必ずしもヒトでの感染病態を直接反映しているものではないことを添えておく。

(2)ヒトのウイルス感染防御におけるPRRシグナルの役割

ヒトの感染防御における自然免疫系のPRRsを介するシグナルの重要性はどの程度のものであるか?ヒトのHSV-1による脳炎(HSV-1 encephalitis; HSE)の遺伝的な要因として、TLR3シグナルの先天的な異常が報告されている。HSEの患者においてTLR3自体の変異が見出された²⁶⁾。この変異はTLR3のロイシンリッチリピート領域にアミノ酸置換(P554S)を来すことで、リガンドに対する応答性が低下し、下流のIRF経路やNF- κ B経路の活性化が障害され、IFN- α/β やIFN- λ 、IL-6の発現誘導が抑制される。別のグループはHSE患者においてUNC-93Bについて2種類の変異(1034del4とG781A)を報告している²⁷⁾。小胞体の膜上に存在するUNC-93Bタンパク質の機能はまだ明らかではないが、マウスの実験ではUNC-93Bタンパク質はTLR3、TLR7およびTLR9と会合し、これらの受容体を介す

るシグナルを下流に伝えるための何らかの役割があることが示唆されている。実際に、UNC-93B をコードする遺伝子(マウス)の点突然変異(H412R)により、TLR3/7/9 との会合が阻害され、下流のシグナルが障害される²⁸⁾。UNC-93Bに変異をもつ患者由来の細胞では、TLR3/7/8/9を介する応答が障害されている。

上述した TLR3 の変異と HSE との関連性を考慮すると、共通してみられる TLR3 シグナルの異常が HSE の疾患感受性を決定していると予想される。このようにヒトの中枢神経系における HSV-1 の感染に対して TLR3 シグナルによる I 型および III 型 IFNs の産生誘導が選択的な役割を担っていることが考えられている^{26,27)}。このような病態には、TLR9 サブファミリーメンバーを介するシグナルは必ずしも必要ではないことが示唆されるヒト原発性免疫不全症のひとつを挙げることができる。TLR9 サブファミリーメンバーを介するシグナル経路において選択的な役割が示されている IRAK4 欠損症では、MyD88 を中心としたシグナル複合体のひとつのコンポーネントである IRAK4 は IRF-7 の活性化に続く I 型 IFNs 遺伝子の発現誘導を引き起こす重要なシグナル分子である。しかしながら、IRAK4 欠損の患者は肺炎球菌、黄色ぶどう球菌などの細菌による反復感染を起こすものの、ウイルス感染に対する感受性についての異常は特に報告されていない。

その他、TLRs をコードする遺伝子多型と病原体による感染の感受性との関連性は多くの報告がなされている。ウイルス感染においては、とくに TLR4 の変異が RSV による気管支炎の重症度と関連していることが報告されている。また、インフルエンザ脳症の患者において TLR3 のミスセンス変異(F303S)が報告されており、この TLR3 変異体は NF- κ B 経路も IRF 経路も障害されていることが示されている。

(3) PRRs アゴニストのウイルス感染への応用

PRRs に作用する薬剤としては、おもにアゴニストの投与により自然免疫系シグナルを活性化し、I 型 IFN などの産生やひき続く適応免疫系の活性化の誘導を期待することで、ウイルス排除を目的とした試みが検討されている。ヒトパピローマウイルス(HPV)感染が原因である、尖圭コンジローマに対する塗布治療薬として、Imiquimod が使われていることはよく知られている。これは TLR7 アゴニストであり、その他に、HSV や HIV 治療薬としても検討されている。また、現在、HIV 感染に対して、TLR3 のアゴニストとして部分的にミスマッチのある poly(I:C₁₂U)が、HCV 治療薬として TLR7 アゴニストの Isatoribine や TLR9 アゴニストの CPG10101、TLR7/8 のアゴニストである Resiquimod が、HSV 感染の治療薬として、それぞれ臨床試験が開始されている²⁹⁾。

おわりに

これまで病原微生物の認識については B 細胞受容体や T 細胞受容体を介した適応免疫系での研究が主体であったが、自然免疫系において病原体認識に関わる PRRs が存在していることが明らかになった。ウイルス感染時においても主にウイルスゲノム由来の DNA や RNA といった核酸が PAMPs となり、様々な核酸認識受容体が活性化されて自然免疫応答が誘導される。この場合、活性化される核酸センサーの種類はウイルスの種類をはじめ、全身感染か局所感染か、あるいは局所感染においても感染する細胞や組織の種類によって異なっていることがわかってきた。宿主側ではあらゆる場合に備えて侵入したウイルスを認識するための sensing メカニズムが備わっている一方で、これに対抗すべく、ウイルス側もセンサー受容体自体あるいはその下流のシグナル分子を阻害するウイルスタンパク質を発現させて自然免疫応答から逃れる機構を進化させていることが理解される。このようにウイルスと宿主の自然免疫活性化との関連性を分子レベルで解析していくことはウイルス感染に対する治療の新たな標的分子を見出すことにつながる。さらに、炎症性疾患や自己免疫疾患の病態に自然免疫シグナル

の異常な活性化が関連していることを示唆する報告がなされていることから、自然免疫活性化メカニズムの研究はこれらの疾患をコントロールする薬剤開発に貢献することが期待される。

文献

- 1) Takeuchi O, Akira S: *Immunol Rev* **220**: 214–224, 2007
- 2) Onoguchi K, Yoneyama M, Takemura A et al: *J Biol Chem* **282**: 7576–7581, 2007
- 3) Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Satoh E et al: *J Exp Med* **205**: 1601–1610, 2008
- 4) Hornung V, Ellegast J, Kim S et al: *Science* **314**: 994–997, 2006
- 5) Kato H, Takeuchi O, Sato S et al: *Nature* **441**: 101–105, 2006
- 6) Loo YM, Fornek J, Crochet N et al: *J Virol* **82**: 335–345, 2008
- 7) Gack MU, Shin YC, Joo CH et al: *Nature* **446**: 916–920, 2007
- 8) Kumagai Y, Takeuchi O, Kato H et al: *Immunity* **27**: 240–252, 2007
- 9) Saito T, Hirai R, Loo YM et al: *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**: 582–587, 2007
- 10) Venkataraman T, Valdes M, Elsby R et al: *J Immunol* **178**: 6444–6455, 2007
- 11) Shinohara ML, Lu L, Bu J et al: *Nat Immunol* **7**: 498–506, 2006
- 12) Lee HK, Lund JM, Ramanathan B et al: *Science* **315**: 1398–1401, 2007
- 13) Jounai N, Takeshita F, Kobiyama K et al: *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 14050–14055, 2007
- 14) Ishii KJ, Coban C, Kato H et al: *Nat Immunol* **7**: 40–48, 2006
- 15) Stetson DB, Medzhitov R: *Immunity* **24**: 93–103, 2006
- 16) Takaoka A, Wang Z, Choi MK et al: *Nature* **448**: 501–505, 2007
- 17) Wang Z, Choi MK, Ban T et al: *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**: 5477–5482, 2008
- 18) Ishii KJ, Kawagoe T, Koyama S et al: *Nature* **451**: 725–729, 2008
- 19) Muruve DA, Petrilli V, Zaiss AK et al: *Nature* **452**: 103–107, 2008
- 20) Pichlmair A, Schulz O, Tan CP et al: *Science* **314**: 997–1001, 2006
- 21) Strahle L, Marq JB, Brini A et al: *J Virol* **81**: 12227–12237, 2007
- 22) Hartman AL, Bird BH, Towner JS et al: *J Virol* **82**: 2699–2704, 2008
- 23) Reid SP, Leung LW, Hartman AL et al: *J Virol* **80**: 5156–5167, 2006
- 24) Cooray S, Bahar MW, Abrescia NG et al: *J Gen Virol* **88**: 1656–1666, 2007
- 25) Kobasa D, Jones SM, Shinya K et al: *Nature* **445**: 319–323, 2007
- 26) Zhang SY, Jouanguy E, Sancho-Shimizu V et al: *Immunol Rev* **220**: 225–236, 2007
- 27) Casrouge A, Zhang SY, Eidenschenk C et al: *Science* **314**: 308–312, 2006
- 28) Brinkmann MM, Spooner E, Hoebe K et al: *J Cell Biol* **177**: 265–275, 2007
- 29) Averett DR, Fletcher SP, Li W et al: *Biochem Soc Trans* **35**: 1468–1472, 2007