

## 第9回湯河原ウイルス学キャンプ聴講録

教育講演「自然免疫における炎症の転写後調節メカニズム」

講師：竹内理 先生（京都大学ウイルス研究所生体応答学研究部門感染防御研究分野）

「自然免疫における炎症の転写後調節メカニズム」を拝聴して

東京大学医科学研究所感染・免疫部門 ウイルス病態制御分野 博士課程2年 劉卓明

### 概要

自然免疫は細菌、ウイルス、寄生虫といった感染病原体の初期の認識、ならびに、そののちの炎症反応の惹起や獲得免疫の誘導に重要な役割をはたす生体防御機構である。炎症反応にはTNF (tumor necrosis factor, 腫瘍壊死因子), IL-1 $\beta$  および IL-6 (IL: interleukin, インターロイキン) のような炎症性サイトカインの関与が知られている。それら炎症性サイトカインの発現は通常の細胞においては抑制されており, 病原体による感染が起こると病原体を認識する受容体である Toll 様受容体 (Toll-like receptor: TLR) を介し急速にその発現が惹起される。TLR3 を除くすべての Toll 様受容体と IL-1 受容体はアダプタータンパク質である MyD88 に依存的にシグナル伝達を開始する。そのうち, MyD88 と会合した IRAK4 は IRAK1 および IRAK2 を活性化する。つづいて, NEMO, I $\kappa$ B キナーゼ  $\alpha$ , I $\kappa$ B キナーゼ  $\beta$  により構成される I $\kappa$ B キナーゼ複合体が I $\kappa$ B $\alpha$  の DSGxxS モチーフをリン酸化する。リン酸化した I $\kappa$ B $\alpha$  はユビキチンリガーゼである  $\beta$  TRCP 複合体によりユビキチン化されプロテアソームにおいて分解される。それによりそれまで I $\kappa$ B $\alpha$  と結合することでその活性が抑制されていた NF- $\kappa$ B が核へと移行し炎症性サイトカイン遺伝子の転写を誘導する。この転写活性化による制御にくわえて, mRNA はその分解速度によっても制御されている。

**regnase-1 は Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激による反応によりリン酸化され分解される**

regnase-1 のタンパク質レベルにおける発現を検討するため新規に抗体を作製したところ, regnase-1 はタンパク質レベルにおいて刺激をうけるまえの定常状態においても発現していることが明らかになった。この結果と対応して, regnase-1 を欠損した細胞では定常状態においても *IL-6* mRNA の発現が野生型の細胞と比べ上昇していた。

**regnase-1 の DSGxxS モチーフは I $\kappa$ B キナーゼ複合体によりリン酸化される**

regnase-1 の 435 番目および 439 番目のセリン残基の変異体は, 野生型の regnase-1 よりも *IL-6* mRNA の発現を抑制した。I $\kappa$ B キナーゼは regnase-1 の DSGxxS モチーフをリン酸化し,  $\beta$  TRCP はユビキチン-プロテアソーム系の活性化に関与していることが示された。さらに, regnase-1 のリン酸化は Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激による *IL-6* mRNA の発現増強に関与していることが示された。

**I $\kappa$ B キナーゼ複合体は *IL-6* mRNA の安定性の増強にはたらく**

I $\kappa$ B キナーゼ複合体は Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激により, I $\kappa$ B $\alpha$ -NF $\kappa$ B シグナル伝達経路によるサイトカイン遺伝子の転写の活性化だけでなく, regnase-1 の分解を介した mRNA の安定化をも誘導していることが示された。

**IRAK1 は regnase-1 と結合しこれをリン酸化する**

TNF 受容体ではなく, Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激により regnase-1 が分解される分子機構を検討した。I $\kappa$ B キナーゼ複合体の活性化のみでは regnase-1 のリン酸化は十分ではなかった。TNF 受容体, IL-1 受容体および Toll 様受容体の下流のシグナル伝達タンパク質は, TAK1 の下流では共有されている一方, IRAK1, IRAK2, MyD88 は TNF

受容体の刺激ではなく Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激により活性化されることが知られている。さらに、IRAK は NF- $\kappa$ B の活性化にくわえ mRNA の安定性をも制御するが、IRAK1 と IRAK2 のダブルノックアウト細胞においても MyD88 の下流タンパク質である NF- $\kappa$ B が活性化されていることが報告されている。したがって、regnase-1 の分解には MyD88, IRAK1, IRAK2 のすべてが必要であり、I $\kappa$ B キナーゼ複合体の単純な活性化だけでなく IRAK を介した分子機構により regnase-1 は分解されているのではないかと仮定した。IRAK1 は regnase-1 を直接にリン酸化することにより、I $\kappa$ B キナーゼ  $\beta$  を介した regnase-1 のユビキチン化を促進しているものと考えられた。

### **regnase-1 は自らの mRNA の安定性を制御する**

いちど regnase-1 が急速な分解を起こすと、刺激ののち 60 分から 120 分以内に再発現する。regnase-1 遺伝子の転写は NF- $\kappa$ B などの転写因子により制御されており、regnase-1 mRNA の発現は刺激ののちの転写を必要とする。NF- $\kappa$ B の活性化は IL-1 $\beta$  の刺激および TNF の刺激により同様に誘導されるが、IL-1 $\beta$  刺激は TNF 刺激よりも regnase-1 mRNA を強く発現させる。さらに、IL-1 $\beta$  の刺激 20 分後の regnase-1 の半減期は無刺激のときより長くなり、これに対して、刺激 240 分後の regnase-1 の半減期は無刺激のときの regnase-1 の半減期と同様であった。以上の結果から、regnase-1 mRNA は RNA 分解酵素である regnase-1 自体の標的になっているとの仮説をたてた。regnase-1 は自らの mRNA を安定化していることが示された。さらに、regnase-1 は自らの mRNA の 3' 側非翻訳領域にあるステムループ構造を標的にしてこれを分解していることが示された。このように、regnase-1 は自己の mRNA を標的のひとつとして分解することにより、最終的な炎症の収束および恒常性の維持にかかわっているものと考えられた。また、この制御機構のモデル化およびシミュレーションを試み、IL-1 $\beta$  の刺激および TNF の刺激に対する regnase-1 や IL-6 の発現の違いを説明する数理モデルの構築にも成功した。

### **感想**

I $\kappa$ B キナーゼ複合体が Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激による IL-6 mRNA の転写だけでなく、IL-6 mRNA の安定性をも制御していることを明らかにした。そして、その安定化には I $\kappa$ B キナーゼ複合体による regnase-1 の分解機構が関与していることが示された。さらに、regnase-1 は自らの mRNA を負に制御することにより Toll 様受容体あるいは IL-1 受容体の刺激による負のフィードバックに関与していることが示された。今回が初めての参加でした、思いかけず、竹内理先生の講演感想の機会をもらいました、非常にラッキーと思います。このような先端の研究を身近な先生がしているということは、将来研究員としての私にとって大きな刺激となりました。同時に、ウイルス学キャンプではさまざまな分野の先生方のお話を聞くことができ、何でも質問することができたのでいっばいに勉強になりました。自由なオープンな雰囲気を感じました。将来、自分の研究を真剣に勉強して研究します。