

1. 自然免疫におけるウイルス感染認識機構

植松 智, 審良 静男

大阪大学微生物病研究所自然免疫学

Toll-like receptors (TLRs) は自然免疫における重要な分子で, 様々な病原体においてよく保存された構造を認識して自然免疫応答を誘導する. ある種の TLR はウイルス構成成分を認識して I 型インターフェロンを誘導することによって抗ウイルス応答を誘導する. TLR2 や TLR4 が細胞表面においてウイルス構成成分を認識するのに対し, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 はエンドソームによく発現している. ファゴサイトーシスによってウイルスやウイルスに感染してアポトーシスを起こした細胞を取り込むと, ウイルスの核酸がファゴソーム内で遊離しこれらの TLR によって認識される. 最近, 宿主は細胞質内で TLR 非依存的に複製するウイルスを認識する機構を持つことが報告された. 今回, 我々は自然免疫によるウイルス認識とシグナル伝達経路について概説する.

はじめに

ウイルスは細菌の様に自己で増殖せず, 動物細胞をはじめ細菌, 真菌, 植物等の生細胞に侵入し, 感染細胞の代謝機能を借用して自己の複製を行っている. ウイルスが細胞に感染するとウイルス遺伝子に指令されるタンパク抗原 (ウイルス関連抗原) と, 宿主細胞遺伝子の活性化産物 (種々の分化抗原) が細胞表面に表出される. ウイルスの構成成分やウイルス細胞抗原は, 宿主の生体防御免疫機構によって認識され, 種々の炎症反応が引き起こされる. その結果, ウイルス感染細胞は排除され, 感染性ウイルスは中和され, 異物抗原は除去される. 自然免疫は侵入してくるウイルスに対して第一線の防御を行う. 近年の分子生物学的な解析により, 自然免疫系におけるウイルス認識機構やそのシグナル伝達経路が明らかになってきた.

1. I 型インターフェロン (IFN)

細胞がウイルスに感染すると, 様々なサイトカイン, ケ

モカイン, プロスタノイド等が産生され, 炎症反応を惹起する. これらの中で特に重要なものは, I 型 IFN (複数の IFN- α と一種類の IFN- β) で, ウイルス感染後の自然免疫応答だけでなく獲得免疫の活性化にも重要な役割を果たす. I 型 IFN は CD40, CD80, CD86 といった共刺激分子や MHC 分子の発現を誘導し, 樹状細胞 (DC) を成熟させるだけでなく, ウイルス抗原のクロスプレゼンテーションも促進する. また, ケモカインを誘導してリンパ球や単球を炎症部位に遊走させる. また, CD8⁺T 細胞においてその活性化や増殖, さらにはメモリー CD8⁺T 細胞の維持にも必要である. I 型 IFN は, 自然免疫や獲得免疫の活性化だけでなく, 蛋白合成, 細胞増殖や生存に直接影響を与えるたくさんのエフェクター蛋白を誘導し, ウイルスの増殖を抑制している¹⁾.

I 型 IFN は IFNAR1 と IFNAR2 からなる受容体に結合すると Janus kinase (JAK) -Signal transducer and activator of transcription (Stat) 経路によって Stat1 と Stat2 がチロシンリン酸化を受ける. Stat1 と Stat2 及び interferon regulatory factor 9 (IRF9) が IFN-stimulated gene factor 3 (ISGF3) というヘテロ 3 量体の複合体を形成し, ISRE と呼ばれる遺伝子領域に結合して様々な IFN 誘導性遺伝子の発現誘導を行う²⁾.

2. I 型 IFN の転写制御

I 型 IFN の誘導は様々な転写因子によって制御されている. I 型 IFN の中で, IFN- β のプロモーターが最も詳しく調べられている. ウイルスで細胞を刺激すると, IFN- β プ

連絡先

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1

大阪大学微生物研究所

癌抑制遺伝子研究分野

TEL: 06-6879-8303

FAX: 06-6879-8305

E-mail: uemattsu@biken.osaka-u.ac.jp

ロモーターに複数のタンパク複合体が結合する。この複合体は少なくとも3つの転写因子、ATF-2/c-Jun, NF- κ B, IRF3から構成されている。これらの中で、NF- κ BとIRF3は未刺激時には細胞質内に局在している。NF- κ BはI κ Bによって細胞質内にとどめられており、ウイルス感染によって活性化されたI κ B kinase (IKK)がI κ Bをリン酸化することで、ユビキチン化を受け、I κ Bは分解される。これによってNF- κ Bは核に移行し、ターゲット遺伝子を誘導する。IRF3はウイルスに感染すると、non-canonical IKKであるTBK1/IKKiによってリン酸化を受け活性化される。リン酸化されたIRF3は2量体を形成し、核移行する。ウイルス感染では又、JNK/p38といったストレスキナーゼの活性化を誘導し、核のATF2/c-Junをリン酸化する。こうして、ATF-2/c-Jun, NF- κ B, IRF3は複合体を形成してIFN- β のプロモーターに結合し、転写を開始させる²⁾。

IRF7はIFN誘導性遺伝子のひとつでI型IFN, 特にIFN- α sの遺伝子発現を制御している。IRF7は後述する形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid DC:pDC)を除いて、未刺激状態では殆ど発現していない。ウイルス感染後、上述のATF-2/c-Jun, NF- κ B, IRF3の複合体によって誘導されたIFN- β によってIRF7が誘導される。誘導されたIRF7がTBK1/IKKiによってリン酸化されるとI型IFNのプロモーターに結合して転写を誘導し、I型IFNの産生誘導を増幅させる。IRF7のノックアウトマウスの解析では、IFN- α とIFN- β の両方の転写がIRF7依存的事であることが示され、IRF7がI型IFNのマスター制御因子であることが分かった³⁾。

3. TLRとウイルス認識

自然免疫は、主にマクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞などによって担われる。最近まで自然免疫は、非特異的な貪食作用によって病原体を処理するだけで、獲得免疫が活性化されるまでの一時しのぎの役割しかしないと考えられていた。しかし、TLRの発見を通して、自然免疫系が特異的に病原体の侵入を認識し、感染防御が成立させることが明らかになってきた。

TLRは、細胞外領域にタンパク質間の相互作用に関わるモチーフであるロイシンリッチリピート(LRR)を持つ。また、細胞内領域はインターロイキン1レセプター(IL-1R)の細胞内領域と相同性を持つToll/IL-1R相同領域(TIRドメイン)を有する⁴⁾。哺乳類のTLRは、哺乳類には存在しないが病原体でよく保存された特徴的な構造(pathogen-associated molecular patterns; PAMPs)を認識してあらゆる病原体の侵入を感知する。TLRは現在までに13種類がデータベース上で報告されており、その大部分はリガンドが同定されている¹⁾。

当初、TLRは細菌の菌体成分を認識する受容体と考えられていたが、真菌や原虫の構成成分も認識することが明らか

になった。さらに、ウイルスの認識にTLRが関与することが分かってきた。TLR4がrespiratory syncytial virus (RSV)の融合蛋白の認識に関わることが報告された。TLR4の遺伝子に変異を持つC3H/HeJマウスはRSVの感染に弱いことが示された。さらに、mouse mammary tumor virus (MMTV)の封入体の糖蛋白がTLR4を介してB細胞を活性化させることが報告された¹⁾。

TLR2は麻疹ウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、ヒト単純疱疹ヘルペスウイルスI型(herpes simplex virus-1: HSV-1)のウイルス構成成分を認識することが明らかになった¹⁾。

2本鎖RNA(double stranded RNA: dsRNA)は免疫細胞を活性化させ、I型IFNを誘導する最も代表的なウイルスの構成成分である。dsRNAはRNAウイルスが宿主細胞に感染し複製する際に生じるが、合成のdsRNAであるpolyinosinic-polycytidylic acid (poly (I:C))はウイルスのdsRNAと同様の免疫活性を持つ。TLR3がこのdsRNAの認識に関わることが報告された¹⁾。

TLR3やTLR4に加えて、TLR9やTLR7もウイルスの認識に関わっている。TLR9は、CpG DNAを認識する受容体として同定された。CpG DNAは細菌のゲノムDNAの特徴的な配列でメチル化されていないCpG配列がある頻度でくりかえされている。哺乳類のゲノムDNAではCpG配列の頻度が少なく高頻度にメチル化されているため、免疫賦活作用はない。一方、CpG DNAは、TLR9を介して宿主の免疫を強力に活性化する。CpG DNAはウイルスにも存在しており、DNAウイルスであるHSV-2がTLR9を介してIFN- α を産生させることが明らかとなった¹⁾。

イミダゾキノリン誘導体は、抗ウイルス活性や抗腫瘍効果有する合成化合物である。イミダゾキノリン誘導体の一つであるイミキモドは、ヒトパピローマウイルス感染による尖型コンジローム(外陰部疣贅)に対する治療薬として、アメリカをはじめ世界各国で臨床応用されている。また、イミキモドよりもその活性が強いR-848も合成され、現在、臨床試験が行われている。我々のノックアウトマウスの解析からTLR7がイミダゾキノリン誘導体を認識し、様々な炎症性サイトカインを誘導し抗ウイルス活性を惹起することが明らかになった。イミダゾキノリン誘導体は核酸様の構造を持つため、TLR7はウイルスの成分を認識することが予測されていた。最近、TLR7(ヒトではTLR7とTLR8)がウイルスの一本鎖RNA(single strand RNA: ssRNA)を認識することが明らかになった¹⁾。

4. TLRのシグナル伝達経路

1) 炎症性サイトカインを産生する経路

TLRがリガンドを認識するとTLR3以外の全てのTLRに共通なアダプター分子のMyD88がTIRドメインを介してTLRと結合する。次いでDeathドメインを介してIL-1

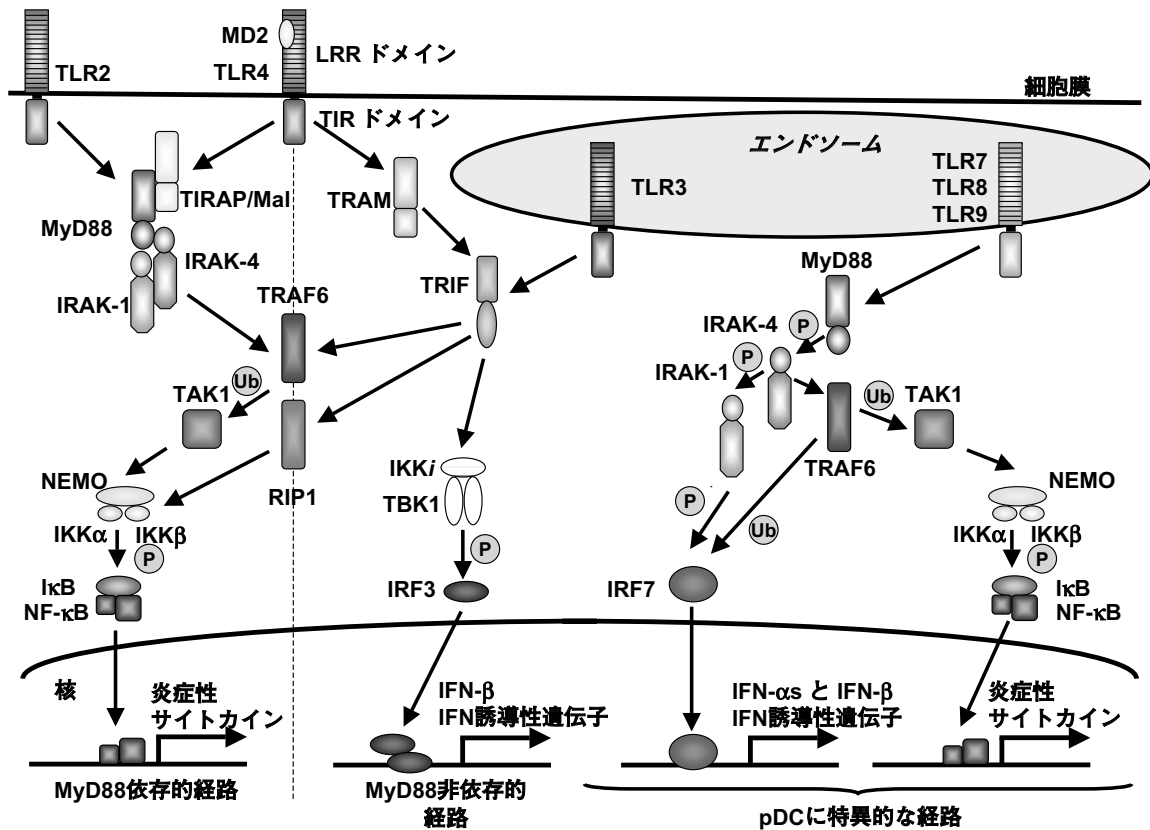


図1 TLRのシグナル伝達経路

TLRはファミリーメンバーごとに特異的なシグナル伝達経路を有している。TLR3を除く全てのTLRに共通なMyD88依存的経路に加えて、TLR3, TLR4はTRIF依存的な経路を有している。TLR7, TLR8, TLR9にはpDCにおいてI型IFNを産生する特徴的なシグナル伝達経路が存在する。Ub;ユビキチン化, P;リン酸化。

receptor associated kinase (IRAK)-1とIRAK-4に結合し活性化させる。その後、IRAKsはTNF receptor associated factor 6 (TRAF6)と相互作用し、IKK複合体を活性化させる。IKK複合体はI κ Bをリン酸化してdegradationを誘導し、転写因子のNF- κ Bを核に移行させる。この経路はMyD88依存的経路と呼ばれTNF- α 、IL-6やIL-12といった炎症性サイトカイン産生やB細胞の活性化に必須である。TLR2とTLR4では、このMyD88依存的経路にTIRAP/Malと呼ばれる第2のTIRドメインを持つアダプター分子が必要である²⁾。

2) MyD88非依存的経路

サイトカイン産生経路に加えて、いくつかのTLRファミリーメンバーはI型IFNを産生するシグナル伝達経路を持っている。特に、TLR3とTLR4はMyD88非依存的にIFN- β とIFN誘導性遺伝子を誘導するシグナル伝達経路(MyD88非依存的経路)を有している。第3のアダプター分子TRIFがこのシグナル伝達経路に必須の分子であることが明らかになった。TLR4のシグナル伝達経路では、炎症性サイトカイン産生にもTRIFが必要不可欠であることが明らかになった²⁾。

TLR4を介するMyD88非依存的経路では、TRIFの他に第4のアダプター分子のTRAMを必要とする。TRAMのN末はミリスチル化部位をもち、この部位に変異を導入すると正常に膜上に局在できなくなり、TLR4のシグナルが障害される。このため、TRAMはTLR4とTRIFをつなぐアダプターの役割をしていると考えられる。

TLR3やTLR4が刺激を受けると、TRIFはTBK1とIKKiと介する。TBK1とIKKiがIRF3をリン酸化するとIRF3は二量体化し、IFN- β プロモーターを活性化する²⁾。

TRAF6はTRIFと結合し協調的にNF- κ Bを活性化させることが報告された。しかしながら、TRAF6とMyD88のダブルノックアウトマウスでは尚LPSによるNF- κ Bの活性化が認められた。従って、TRIFはTLR4のシグナル伝達経路においてTRAF6依存的と非依存的な経路でNF- κ Bを活性化することが示唆された⁵⁾。

Receptor-interacting protein-1(RIP1)はRip homotypic interaction motif (RHIM)を介してTRIFのC末と結合する。RIP1欠損細胞の解析から、RIP1はTRIF依存的なNF- κ Bの活性化に必須の分子であると考えられる⁵⁾。

4) pDC

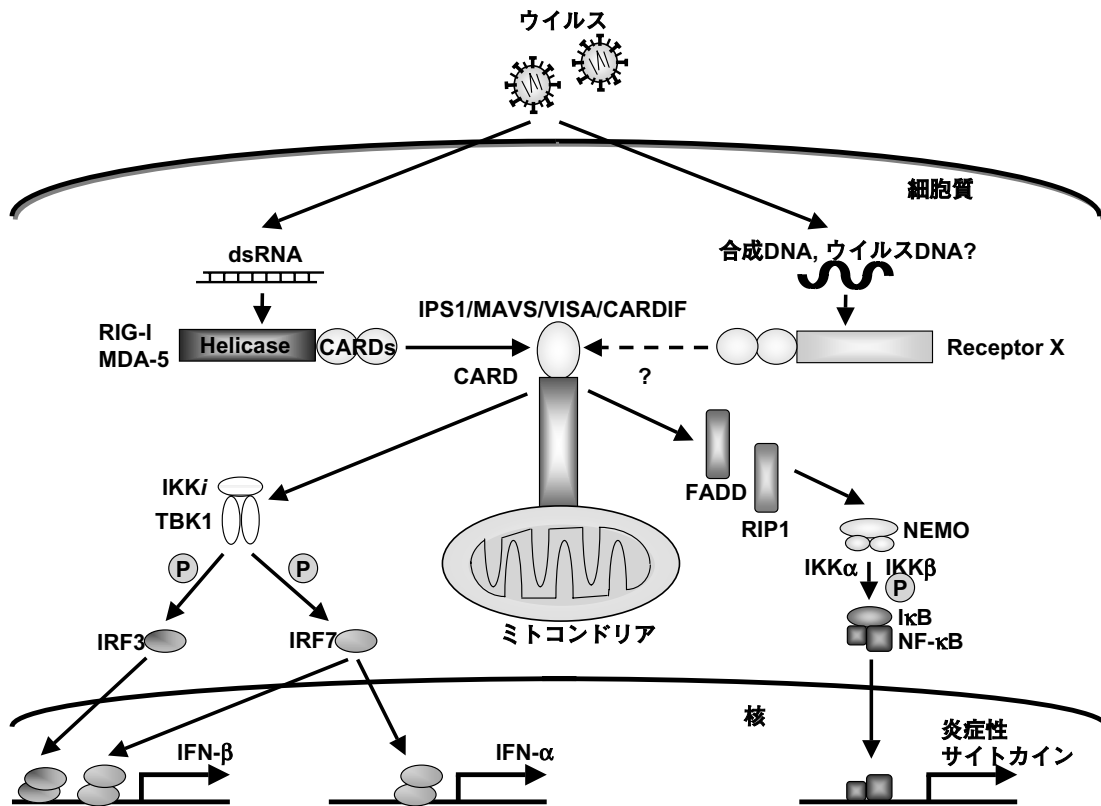


図2 細胞質内 RNA ヘリカーゼのシグナル伝達経路

ウイルスは細胞質内で複製する際に dsRNA を生じる。IPS-1 は CARD ドメインを介して RIG-I や MDA5 と結合し、TBK1/IKK ϵ 依存的に転写因子 IRF3 と IRF7 をリン酸化し I 型 IFN を誘導する。IPS-1 は FADD/RIP1 依存的に NF- κ B も活性化する。合成の dsDNA もトランスフェクションにより I 型 IFN を誘導するが、その受容体は不明である。

全ての細胞はウイルス感染に際して I 型 IFN を産生する能力が備わっているが、産生する I 型 IFN の量は細胞の種類によって異なっている。ヒトの末梢血の単核細胞をウイルスで刺激するとある特殊な細胞集団が大量の I 型 IFN を誘導することが知られおり、IFN producing cells (IPC) と呼ばれていた。これらの細胞は、成熟し、樹状細胞の形態を有し、抗原提示を行い、T 細胞を活性化する能力があることから pDC と呼ばれるようになった。マウス脾臓樹状細胞は CD11c 強陽性 B220 陰性細胞と CD11c 弱陽性 B220 陽性細胞とに大別される。後者の分画に、pDC が含まれる⁶⁾。pDC は TLR7 (ヒトでは TLR8 も) と TLR9 をエンドソーム膜に高発現しており、エンドサイトーシスによって取り込んだウイルスの核酸成分を認識すると考えられている¹⁾。pDC は TLR7 や TLR9 のリガンドを認識して、MyD88 依存的に大量の I 型 IFN を誘導する。pDC は未刺激時から IRF7 を発現しており、リガンド刺激によって、IRF7 は MyD88/IRAK-4/IRAK-1/TRAF6 と複合体を形成して活性化される⁷⁾。IRAK-1 は MyD88 や IRAK-4 の下流に位置し、NF- κ B の活性化には影響を及ぼさないが、IRF7 のリン酸化に必須の酵素であった⁸⁾。IRF7 の活性化には TRAF6 のユビキチンリガーゼ活性も必要である⁷⁾。最近、pDC にお

いて、TLR7 と TLR9 を介する IRF7 の活性化には IKK- α も必要であることが報告された⁹⁾。IKK- α が MyD88/IRAK-4/IRAK-1/TRAF6 の複合体の下流でどのように IRF7 を活性化するか詳細は分かっていない。

5. TLR 非依存的な抗ウイルス応答

TLR は細胞表面やエンドソーム膜に発現しており、細胞外もしくはエンドサイトーシスによって取り込んだウイルスを分解し、その構成成分を認識する。エンドサイトーシスによって取り込まれたウイルスは脱殻後、細胞質内にエスケープし、複製を行う。また、エンベロープの融合によって直接細胞質内にウイルスゲノムを注入し、複製を進行させる。最近、細胞質内において、TLR 非依存的にウイルスを認識する免疫システムがあることが分かってきた。

1) 細胞質内 RNA ヘリカーゼ

Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) はウイルスの dsRNA を認識する細胞質内受容体として同定された¹⁰⁾。RIG-I は C 末にヘリカーゼドメインを N 末に 2 つの連なった caspase-recruiting domains (CARD) ドメインを持つ DExD/H box RNA ヘリカーゼである。RIG-I はヘリカーゼドメインで RNA に結合し、ATPase 依存的に dsRNA

表 1 TLR とウイルスの認識

TLR が認識するウイルス構成成分を示す。

| TLRs | ウイルスの認識 |
|-------------|--|
| (細胞表面に局在) | |
| TLR2 | 麻疹ウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、ヒト単純疱疹ヘルペスウイルス I 型のウイルス構成成分を認識 |
| TLR4 | respiratory syncytial virus (RSV) の融合蛋白 mouse mammary tumor virus (MMTV) の封入体の糖蛋白 |
| (エンドソームに局在) | |
| TLR3 | 2 本鎖 RNA、合成 2 本鎖 RNA (Poly (I:C)) |
| TLR7/TLR8 | 1 本鎖 RNA、イミダゾキノリン誘導体 (抗ウイルス薬) |
| TLR9 | CpG DNA |

を分子内構造の変化を誘導することによって、N 末の CARD ドメインを下流のシグナル伝達分子と結合させ、転写因子の IRF3 と NF- κ B の活性化を誘導する¹⁰⁾。

RIG-I の機能の重要性は *in vitro* と *in vivo* の解析で示されてきた。RIG-I を強制発現すると水胞性口炎ウイルス (Vesicular stomatitis virus: VSV) の複製を抑制した。RIG-I 遺伝子を RNAi によってノックダウンすると、ニューキャッスル病ウイルス (Newcastle disease virus)、センダイウイルス、脳心筋炎ウイルス (encephalomyocarditis virus: EMCV) に対する I 型 IFN 誘導を抑制した¹⁰⁾。RIG-I 欠損マウスは重篤な肝障害のため、多くが胎生致死であった。RIG-I 欠損マウスの樹状細胞や線維芽細胞では、NDV、センダイウイルス、VSV に対する I 型 IFN や炎症性サイトカインの産生がほぼ完全に障害されていた。しかしながら、RIG-I 欠損 pDC では、NDV に対して野生型と同様に I 型 IFN を産生した。pDC では、TLR システムが RNA ウイルスに対する I 型 IFN 産生に必須であった。従って、宿主は抗ウイルス応答を誘導するにあたって、細胞特異的に RIG-I と TLR を使い分けていることが分かった¹¹⁾。

Melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5; マウスでは Helicard と呼ばれている) は DExD/H box RNA ヘリカーゼで 2 つの CARD ドメインと 1 つのヘリカーゼドメインを持つ。RIG-I と同様に、MDA5 は dsRNA を認識し、強制発現によって NDV、VSV、EMCV に対する抗ウイルス応答を誘導した。MDA5 はまた、パラミクソウイルスの V 蛋白の標的分子であることが報告された。V 蛋白は MDA5 と結合することによって dsRNA による IFN- β 産生を抑制すると考えられている。In *vitro* の解析により、MDA5 が RNA ウイルスに対する感染防御において重要な役割を果たす事が分かったが、MDA5 の *in vivo* の

役割や RIG-I との関係は不明であった。最近、MDA5 欠損マウスが作製され解析された。RIG-I がパラミクソウイルス、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルスといった RNA ウイルスの感染防御に必須の分子であるのに対し、MDA5 はピコルナウイルスの認識に必須であることが明らかになった。MDA5 の欠損マウスはピコルナウイルス属の EMCV の感染に対し、非常に感受性を示した。このように、RIG-I と MDA5 は異なる RNA ウイルスを認識しわける事が明らかになった¹²⁾。

合成の dsRNA である poly (I:C) は、TLR3、RIG-I、MDA5 によって認識されると考えられていた。これらの遺伝子の欠損マウスの解析から、poly (I:C) による I 型 IFN 誘導には MDA5 が、IL-12p40 産生には TLR3 が、IL-6 の産生には MDA5 と TLR3 の両方が必要であることが分かった。一方、RIG-I は poly (I:C) の認識には関わらず、*in vitro* で転写した dsRNA を認識することが明らかになった¹²⁾。以上の結果から、RIG-I は RNA ウイルスの複製によってできた dsRNA を認識すると考えられる。一方、MDA5 の真のリガンドは現在のところ不明である。今後の解明が待たれる。

RNA ヘリカーゼの Lgp2 は RIG-I と MDA5 に類似の蛋白であるが、CARD ドメインを持っていない。Lgp2 の強制発現によって、センダイウイルスによる IFN- β プロモーターの活性化を抑制したことから、Lgp2 は RIG-I や MDA5 の抑制因子として働くと考えられている^{13,14)}。in *in vivo* の詳細な解析が待たれる。

3) 細胞内 RNA ヘリカーゼのシグナル伝達経路

RIG-I や MDA5 のシグナル伝達経路では、IKK 複合体 (IKK $\alpha/\beta/\gamma$) が NF- κ B を、TBK1/IKK ϵ が IRF3 と IRF7 を活性化して、遺伝子発現を誘導する。IFN- β

promoter stimulator 1 (IPS-1) は RIG-I と MDA5 の下流で作用する分子として同定された¹⁵⁾. IPS-1 は N 末の CARD ドメインと C 末のエフェクタードメインからなる. IPS-1 は CARD ドメインを介して RIG-I や MDA5 と会合する. IPS-1 を強制発現すると, IFN- β , IFN- α 4, IFN- α 6, NF- κ B のプロモーターを活性化し, VSV の複製を抑制した. IPS-1 を RNA-i によってノックダウンすると, dsRNA を細胞質内に導入した際の I 型 IFN 産生や, VSV や NDV による I 型 IFN 産生を抑制した. IPS-1 による I 型 IFN のプロモーターの活性化には TBK1 や IKK β が必要であったが, IPS-1 はこれらの酵素とは直接結合しなかった. IPS-1 はエフェクタードメインを介して, FADD や RIP1 と結合し, NF- κ B の活性化を促す. この様に, IPS-1 は RIG-I や MDA5 依存的な抗ウイルス応答におけるアダプター分子であることが明らかになった¹⁵⁾.

同時期に他の 3 つのグループが IPS-1 と同じ分子の mitochondrial anti-viral signaling protein (MAVS)¹⁶⁾, virus-induced signaling adaptor (VISA)¹⁷⁾, CARD adaptor inducing IFN- β (CARDIF)¹⁸⁾ を報告している. MAVS の報告では, MAVS がミトコンドリア外膜に局在していることを示した. ミトコンドリアを標的とした膜貫通ドメインが MAVS のシグナル伝達に必須であり, 自然免疫におけるミトコンドリアの重要性が注目されている¹⁶⁾.

4) ウイルスによる宿主免疫の修飾

ウイルスは宿主の免疫機構から逃れる様々なメカニズムをもっている. ワクシニアウイルス (Vaccinia virus: VV) の蛋白の A52R は様々な TLR, 特に TLR3 による NF- κ B の活性化を抑制することが示されてきた^{19,20)}. A52R は IRAK-2 と TRAF6 と結合し, これらの分子を含むシグナル複合体の形成を阻む. さらに, VV から A52R を欠損させると, VV は病原性を失った²⁰⁾. 他の VV 蛋白の A46R は TIR ドメインを持っており, TIR ドメインを持つアダプター分子に介合することによって, IL-1R/TLR を介する NF- κ B の活性化を抑制することが示された^{19,21)}. A46R は様々な TIR ドメインを持つアダプターに結合し, NF- κ B だけでなく, IRF3 の活性化も抑制した.

NS3-4A は C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) の多機能蛋白で, セリンプロテアーゼ活性によって自己のウイルス蛋白の修飾を行う. 最近, NS3-4A が IRF3 の活性化を抑制することが報告された. NS3-4A は Trif を標的として蛋白を切ることによって, TLR3 依存的な経路を障害するだけでなく, RIG-I 依存的な経路も障害することが分かった^{22,23)}. 最近, Meylan らは, Cardif が野生型の NS3-4A によって切られるが, 酵素活性のない NS3-4A には切られないことを報告した. Cardif は NS3-4A によって C 末部分が切られると, IRF3 と NF- κ B の活性化が障害された. 修飾された Cardif はミトコンドリアに局在できなくなっていた¹⁸⁾.

パラミクソウイルス属の V 蛋白は MDA5 と結合し MDA5 の下流のシグナル伝達を抑制する^{13,24)}. このように, ウイルスは抗ウイルス応答に重要な分子を標的として自己の生存を図っていることが明らかになってきた.

5) 細胞質内での DNA の認識

自己の DNA も含め, DNA は TLR9 非依存的に宿主に認識されうる. DNaseII はマクロファージに存在する主たる DNase である. マクロファージは, アポトーシスを起こした細胞をファゴサイトーシスによって取り込むと, DNaseII によって DNA を分解する²⁵⁾. DNaseII 欠損マウスでは, DNA の処理が出来ないことから, DNA がマクロファージに蓄積し, その結果 TLR9 非依的に IFN- β を産生するようになった²⁶⁾. さらに, 病原体や宿主の dsDNA をトランスフェクションによって細胞質に導入すると, 免疫細胞も非免疫細胞も活性化した^{27,28)}. B-DNA は生体内で一般的な DNA であり, Z-DNA は DNA の右巻き二重螺旋構造中に存在する左巻き二重螺旋構造部分のことを言う. トランスフェクションによって B-DNA を細胞質内に導入すると, マウスやヒトの間質細胞や樹状細胞を刺激し, I 型 IFN や ケモカインを産生したが, Z-DNA の場合はこれらの細胞を活性化しなかった. B-DNA のトランスフェクションは, TBK1 と IKK β 依的に IRF3 と IFN- β プロモーターを活性化した. 一方, NF- κ B の活性化は TBK1 と IKK β 非依的であった. RNAi を用いた *in vitro* の解析では, このいずれの経路も, アダプター分子 IPS-1 依的であった. しかし, B-DNA の認識には, 全ての TLR, RIG-I, MDA5 は必要ないことが分かった. 線維芽細胞を B-DNA で活性化するとウイルス感染に対して抵抗性を示したことから, B-DNA によって誘導された IFN や IFN 誘導性遺伝子は抗ウイルス応答に関わることが予想された. さらに, B-DNA によるシグナル伝達経路の活性化は, 核酸依的な自己免疫疾患の発症に密接に関係していることが考えられる. 今後, 細胞質内で DNA を認識する受容体の発見が待たれる²⁹⁾.

おわりに

TLR の発見以降, 自然免疫の活性化のメカニズムが急速に解明されてきた. 当初細菌の菌体成分を認識すると考えられていた TLR も, ある特定の TLR ファミリーメンバーはウイルスの構成成分を認識し, I 型 IFN の誘導に関わることが明らかになった. さらに, TLR 非依的なウイルス認識機構も発見され, その詳細なメカニズムが解析中である. 今後一層の発展により, ウイルス感染に対する生体防御のメカニズムをより包括的に理解できると考えられる.

文 献

- 1) Akira S, Uematsu S, & Takeuchi O. : Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124, 783-801, 2006.
- 2) Akira S, & Takeda K. : Toll-like receptor signalling.

- Nat Rev Immunol* 4, 499-511, 2004.
- 3) Honda K, Yanai H, Negishi H, Asagiri M, Sato M, Mizutani T, Shimada N, Ohba Y, Takaoka A, Yoshida N. & Taniguchi T. : IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature* 434, 772-7, 2005.
 - 4) Akira S. : Toll receptor families: structure and function. *Semin Immunol* 16, 1-2, 2004.
 - 5) Kawai T. & Akira S. : Innate immune recognition of viral infection. *Nat Immunol* 7, 131-7, 2006.
 - 6) Kaisho T. & Akira S. : Pleiotropic function of Toll-like receptors. *Microbes Infect* 6, 1388-94, 2004.
 - 7) Kawai T, Sato S, Ishii KJ, Coban C, Hemmi H, Yamamoto M, Terai K, Matsuda M, Inoue J, Uematsu S, Takeuchi O. & Akira S. : Interferon-alpha induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nat Immunol* 5, 1061-8, 2004.
 - 8) Uematsu S, Sato S, Yamamoto M, Hirotani T, Kato H, Takeshita F, Matsuda M, Coban C, Ishii KJ, Kawai T, Takeuchi O. & Akira S. : Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR) 7- and TLR9-mediated interferon- α induction. *J Exp Med* 201, 915-23, 2005.
 - 9) Hoshino K, Sugiyama T, Matsumoto M, Tanaka T, Saito M, Hemmi H, Ohara O, Akira S. & Kaisho T. : IkappaB kinase-alpha is critical for interferon-alpha production induced by Toll-like receptors 7 and 9. *Nature* 440, 949-53, 2006.
 - 10) Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, Shinobu N, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, Akira S. & Fujita T. : The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol* 5, 730-7, 2004.
 - 11) Kato H, Sato S, Yoneyama M, Yamamoto M, Uematsu S, Matsui K, Tsujimura T, Takeda K, Fujita T, Takeuchi O. & Akira S. : Cell Type-Specific Involvement of RIG-I in Antiviral Response. *Immunity* 23, 19-28, 2005.
 - 12) Kato H, Takeuchi O, Sato S, Yoneyama M, Yamamoto M, Matsui K, Uematsu S, Jung A, Kawai T, Ishii KJ, Yamaguchi O, Otsu K, Tsujimura T, Koh CS, Reis ESC, Matsuura Y, Fujita T. & Akira S. : Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*, 2006.
 - 13) Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, Foy E, Loo YM, Gale M, Jr, Akira S, Yonehara S, Kato A. & Fujita T. : Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol* 175, 2851-8, 2005.
 - 14) Rothenfusser S, Goutagny N, DiPerna G, Gong M, Monks BG, Schoenemeyer A, Yamamoto M, Akira S. & Fitzgerald KA. : The RNA helicase Lgp2 inhibits TLR-independent sensing of viral replication by retinoic acid-inducible gene-I. *J Immunol* 175, 5260-8, 2005.
 - 15) Kawai T, Takahashi K, Sato S, Coban C, Kumar H, Kato H, Ishii KJ, Takeuchi O. & Akira S. : IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat Immunol* 6, 981-8, 2005.
 - 16) Seth RB, Sun L, Ea CK. & Chen ZJ. : Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3. *Cell* 122, 669-82, 2005.
 - 17) Xu LG, Wang YY, Han KJ, Li LY, Zhai Z. & Shu HB. : VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-beta signaling. *Mol Cell* 19, 727-40, 2005.
 - 18) Meylan E, Curran J, Hofmann K, Moradpour D, Binder M, Bartenschlager R. & Tschoopp J. : Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature* 437, 1167-72, 2005.
 - 19) Bowie A, Kiss-Toth E, Symons JA, Smith GL, Dower SK. & O'Neill LA. : A46R and A52R from vaccinia virus are antagonists of host IL-1 and toll-like receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 10162-7, 2000.
 - 20) Harte MT, Haga IR, Maloney G, Gray P, Reading PC, Bartlett NW, Smith GL, Bowie A. & O'Neill LA. : The poxvirus protein A52R targets Toll-like receptor signaling complexes to suppress host defense. *J Exp Med* 197, 343-51, 2003.
 - 21) Stack J, Haga IR, Schroder M, Bartlett NW, Maloney G, Reading PC, Fitzgerald KA, Smith GL. & Bowie AG. : Vaccinia virus protein A46R targets multiple Toll-like-interleukin-1 receptor adaptors and contributes to virulence. *J Exp Med* 201, 1007-18, 2005.
 - 22) Foy E, Li K, Sumpter R Jr, Loo YM, Johnson CL, Wang C, Fish PM, Yoneyama M, Fujita T, Lemon SM & Gale M Jr. : Control of antiviral defenses through hepatitis C virus disruption of retinoic acid-inducible gene-I signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 2986-91, 2005.
 - 23) Li XD, Sun L, Seth RB, Pineda G. & Chen ZJ. : Hepatitis C virus protease NS3/4A cleaves mitochondrial antiviral signaling protein off the mitochondria to evade innate immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 17717-22, 2005.
 - 24) Andrejeva J, Childs KS, Young DF, Carlos TS, Stock N, Goodbourn S. & Randall RE. : The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN-inducible RNA helicase, mda-5, and inhibit its activation of the IFN-beta promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 17264-9, 2004.
 - 25) Kawane K, Fukuyama H, Yoshida H, Nagase H, Ohsawa Y, Uchiyama Y, Okada K, Iida T. & Nagata S. : Impaired thymic development in mouse embryos deficient in apoptotic DNA degradation. *Nat Immunol* 4, 138-44, 2003.
 - 26) Yoshida H, Okabe Y, Kawane K, Fukuyama H. & Nagata S. : Lethal anemia caused by interferon-beta produced in mouse embryos carrying undigested DNA. *Nat Immunol* 6, 49-56, 2005.
 - 27) Suzuki K, Mori A, Ishii KJ, Saito J, Singer DS, Klinman DM, Krause PR. & Kohn LD. : Activation of target-tissue immune-recognition molecules by double-stranded polynucleotides. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 2285-90, 1999.

- 28) Ishii KJ, Suzuki K, Coban C, Takeshita F, Itoh Y, Matoba H, Kohn LD. & Klinman DM. : Genomic DNA released by dying cells induces the maturation of APCs. *J Immunol* 167, 2602-7, 2001.
- 29) Ishii KJ, Coban C, Kato H, Takahashi K, Torii Y, Takeshita F, Ludwig H, Sutter G, Suzuki K, Hemmi H, Sato S, Yamamoto M, Uematsu S, Kawai T, Takeuchi O. & Akira S. : A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat Immunol* 7, 40-48, 2006.

Innate Immune recognition of viral infection

Satoshi UEMATSU, Shizuo AKIRA

Department of Host defense, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

Toll-like receptors (TLRs) are key molecules of the innate immune systems, which detect conserved structures found in a broad range of pathogens and triggers innate immune responses. A subset of TLRs recognize viral components and induce antiviral responses by producing type I interferons. Whereas TLR2 and TLR4 recognize viral components at the cell surface, TLR3, TLR7, TLR8 and TLR9 are exclusively expressed in endosomal compartments. After phagocytes internalize viruses or virus-infected apoptotic cells, viral nucleic acids are released in phagolysosomes and are recognized by these TLRs. Recent reports have shown that hosts also have a mechanism to detect replicating viruses in the cytoplasm in a TLR-independent manner. In this review, we focus on the viral recognition by innate immunity and the signaling pathways.