

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		細胞内小胞輸送分子によるサイトカイン産生の制御に関する研究			
研究テーマ (欧文) AZ		The regulation of cytokine productions by vesicular trafficking			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)ササイ	名)ミワ	研究期間 B	2014 ~ 2015 年
	漢字 CB	笹井	美和	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	Sasai	Miwa	研究機関名	大阪大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		微生物病研究所 感染症態分野 助教			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 自然免疫系の代表的な受容体である Toll 様受容体(Toll-like receptors: TLRs)を介した刺激は、多くの炎症性サイトカインの産生を誘導することが知られているが、同じアダプター分子の活性化を介しているにも関わらず、リガンドの種類や TLR の違いによってサイトカインの産生量や種類が異なり、その詳細な制御メカニズムは未解明のままである。研究代表者は先の研究で、形質様樹状細胞(Plasmacytoid dendritic cells, pDCs)における TLR7/9 を介したサイトカイン産生の詳細な制御機構について解析を行い、TLR7/9 の細胞内小胞の局在を制御する分子として Adaptor protein (AP)-3 を同定した。AP-3 はこれら TLR の細胞内領域に結合して TLR を初期エンドソームから後期リソソーム様オルガネラへと運び、この局在変化はこれら TLR を介した I 型インターフェロン産生に必須であるが炎症性サイトカイン産生には関与していない事を示した。I 型インターフェロン産生における後期リソソーム様オルガネラへの移動の意義を明確にするため、後期エンドソーム様オルガネラ外膜上に特徴的に局在しているフォスファチジルイノシトール (3, 5)ビスリン酸(PtdIns (3, 5)P₂)に着目し、PtdIns (3, 5)P₂ に結合する事が報告されているドメインを、TLR9 を介した I 型インターフェロン産生に関与している下流分子に融合させ、AP-3 欠損細胞における I 型インターフェロン産生の救済について検討したところ、AP-3 欠損細胞で見られなかった I 型インターフェロンの産生が回復したことから、TLR9 を介した I 型インターフェロン産生にはインターフェロン産生に関与する分子複合体が PtdIns (3, 5)P₂ 陽性膜上に集合することが必要であることが暗示された。しかし、PtdIns (3, 5)P₂ がどのようにして I 型インターフェロン産生に関与しているのかについては未解明のままであった。本研究は、PtdIns (3, 5)P₂ そのものが I 型インターフェロン産生に必須であるかを明確にするため、PtdIns (3, 5)P₂ の合成に特異的に関与している事が知られている酵素 PIKfyve の特異的阻害剤 (YM201636)を処理した際のサイトカイン産生について検討した。その結果、pDCs におけるサイトカイン産生は、AP-3 欠損 pDCs とは異なり、I 型インターフェロン産生のみならず、炎症性サイトカイン産生も YM201636 処理により抑制された。 この結果から、AP-3 による TLR の局在変化は TLR をより高濃度 PtdIns (3, 5)P₂ 陽性膜へと移動させることにより、I 型インターフェロン産生に関与する分子複合体の形成を可能としている一方、PtdIns (3, 5)P₂ そのものは炎症性サイトカイン産生に関与する小胞上にも局在しており、TLR 複合体を介した炎症性サイトカイン産生のシグナル機構に何かしら関与していることが示唆された。					
キーワード FA	インターフェロン	TLR9	PIKfyve		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Toll-like receptors (TLRs) traffic to distinct membranes for signaling. TLR7 and TLR9 recognize viral nucleic acids in the endosomes and induce robust antiviral program in plasmacytoid dendritic cells (pDCs). Recent studies indicate that signals from these TLRs bifurcate at the level of distinct endosomal compartments to mediate the induction of cytokine and type I interferon (IFN) genes. TLR9 mediates signals for cytokines from VAMP3⁺ endosome, and induces IFN genes from LAMP2⁺ endosome. Phosphoinositides mark distinct subcellular membranes and control membrane trafficking. However, their role in TLR trafficking and signaling remains unclear. Here, we examined the role of phosphatidylinositol 3P 5-kinase, PIKfyve, in TLR trafficking and signaling. We demonstrate that inhibition of PIKfyve activity preferentially blocks TLR9 signaling for type I IFN induction in pDCs. By confocal microscopy, we show that trafficking of both TLR9 and CpG to the LAMP1⁺ compartment is blocked by PIKfyve inhibitor treatment, whereas their trafficking to the VAMP3⁺ endosome remained intact. These data indicate that PIKfyve provides critical phosphoinositides necessary for the formation of endosome from which TLR9 signals to induce type I IFNs.