

4. ユビキチン化によるウイルス認識分子シグナルの制御

有元 啓一郎¹⁾, 下遠野 邦忠²⁾

1) 京都大学ウイルス研究所ヒトがんウイルス研究分野

2) 慶応義塾大学医学部 総合医科学研究センター

我々の体は感染防御機構として、病原体成分を直接認識し、感染防御反応を誘導するセンサー分子を備えている。代表的な Toll 様受容体 (Toll Like Receptor; TLR) は病原体を細胞表面あるいはエンドソーム/リソソームで認識する。多くの病原体は細胞質内にも侵入するが、細胞質内には non-TLR センサーが存在し、菌体成分や外来の二本鎖 RNA (dsRNA) を認識する。それぞれのセンサー下流では、様々なシグナル伝達分子が機能しており、病原体の侵入時には、生体防御反応の誘導が行われている。宿主の防御反応を制御するサイトカインは細胞増殖に影響を与えることが知られており、その発現や量は厳密に制御される必要がある。このことは、病原体侵入によって活性化され適切に免疫応答に寄与した後に、速やかに減衰するための負のサイトカイン産生制御が必要であることを意味している。これまでの知見により、その制御のいくつかはユビキチン化システムが関与していると考えられている。本稿では、特にウイルス認識シグナルに関与する分子に対するユビキチン化修飾に焦点を当て、そのいくつかを紹介しながらどのようにユビキチン化がこの制御に関わるかについて概説したい。

はじめに

抗ウイルス応答は主に、急激に誘導される I 型 (インターフェロン) IFN によって制御されている。I 型 IFN である IFN α や IFN β 遺伝子の発現は、それらのプロモーター配列に結合する転写因子である IRF3 (Interferon regulatory factor 3) や IRF7 によって主に制御されている^{13,29)}。これまでの知見から、TBK1 (TANK binding kinase 1) /IKK-i (I κ B kinase-i) および IRAK (IL-1 receptor associated kinase) ファミリーによるリン酸化により、IRF3, IRF7 が活性化され核に移行することが I 型 IFN の産生に必須であることが分かっている^{8,12,33)}。また, NF- κ B 転写因子の活性化により, TNF (Tumour necrosis factor)

などの炎症性サイトカインが誘導され炎症反応が誘導される。このウイルス感染時における IFN- α / β 遺伝子, 炎症性サイトカイン遺伝子の発現誘導およびその制御が, TBK1 上流においてウイルス認識機構については TLR の研究から, その一部分が解明されたが, その全容については不明であった。

TLR を介さずウイルスを認識するセンサー (Non-TLR センサー) の存在が考えられたことの発端は, TLR のアダプター分子である MyD88 (Myeloid differentiation 88) および TRIF (TIR domain containing adaptor inducing interferon β) の二重欠損繊維芽細胞において, 全ての TLR リガンドによるシグナルが伝達されず³⁷⁾ にニューキャッスル病ウイルス (NDV) 感染によって I 型 IFN の誘導が起こったことにある³⁹⁾。このことから, TLR 非依存的なウイルス認識センサーが繊維芽細胞において働いていることが示された。

近年, このセンサーは, TLR とは異なり細胞質内でウイルス二本鎖 RNA を認識するセンサーで, RIG-I (retinoic acid inducible gene I), MDA5 (melanoma differentiation associated gene 5) と呼ばれるヘリケースであることが報告された^{39,40)}。

RIG-I は C 末端で, ウイルスの複製過程でできる二本鎖

連絡先

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53
京都大学ウイルス研究所ヒトがんウイルス研究分野
TEL : 075-751-3997
FAX : 075-751-3998
E-mail : arimoto@keikei.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

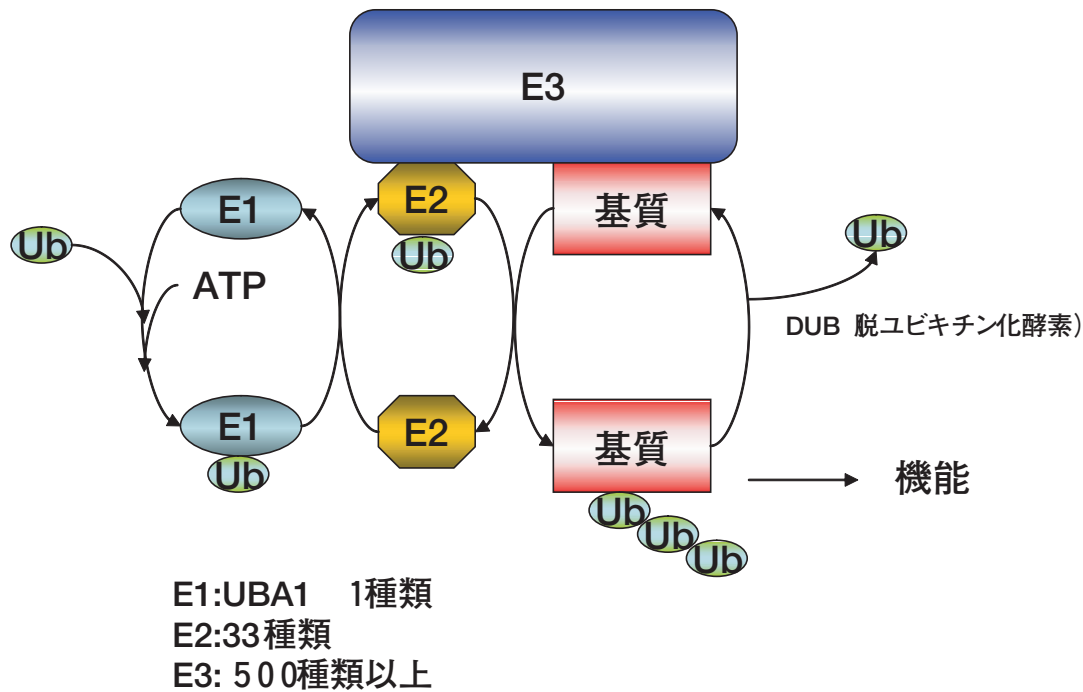


図1 ユビキチン化修飾

RNAを認識し、N末端に存在する2つのCARD (caspase recruitment domain) ドメインからIFN誘導シグナルを下流へ伝達すると考えられている。また、最近RIG-IおよびMDA5のアダプター分子としてCARDドメインを持つIPS1 (interferon β promotor stimulator 1)が発見され (この分子は、ほぼ同時期に別々の研究者らによって発見され、Cardif, MAVS, VISAとも呼ばれている)、そのCARDドメインを介して下流のIFN産生シグナルに伝達する分子であることが報告された^{16,23,30,36}。この様に、TLRシグナルと同様、RIG-Iシグナルは抗ウイルス応答に重要な役割を担っていることが示された。近年の研究によりこの2つの受容体群が細胞特異的に役割を担っていることも明らかになってきている¹⁵。

一方で、抗ウイルス応答を負に制御する内在性因子が数多く同定されている。IFNや炎症性サイトカインの持続亢進は致命的であると考えられるため、これらのシグナルは厳密に制御される必要性があり、重要な因子と考えられる。

我々はRIG-Iを介したIFNシグナルを負に制御するユビキチン化E3リガーゼを見出した。本稿では、これまでに明らかにされているウイルス感染後のIFNや炎症性サイトカイン誘導シグナルを制御するユビキチン化について以下に紹介する。

1. ユビキチン化修飾

ユビキチンは活性化酵素 (E1)、結合/転移酵素 (E2)、

連結酵素/リガーゼ (E3) の3種類の酵素が連続的に働くことによって、標的タンパク質に共有結合することが知られている (図1)。まずATP依存的にE1によってユビキチンのC末端が活性化される。次に活性化状態のユビキチンはE1からE2に移動する。最後にE3リガーゼの働きによってユビキチンは基質へと受け渡され、標的タンパク質の機能が制御される。上記3つの酵素のうちE3は基質特異性が広く、そのためE3こそがユビキチン化の多様な役割を担う重要因子であると考えられている。ユビキチン分子内には7個のLys残基 (K6,11,27,29,33,48,63)が存在し、たとえばタンパク質分解のシグナルとなるポリユビキチン鎖は主としてユビキチン分子内の48番目のLys残基 (K48)の ϵ -アミノ基を介して形成される。このポリユビキチン鎖は26Sプロテアソームへの分解シグナルとなって標的タンパク質は迅速に破壊される。また、63番目のLys残基を介したポリユビキチン化は分解シグナルとはならず、DNA修復、エンドサイトーシス、アミノ酸輸送、I κ Bキナーゼの活性化などの多彩な役割に関与していることが明らかになっている。このように、ユビキチン化されるタンパク質はE2の種類、E3の種類、ユビキチンのタイプ、タイミングで生理的な意義が大きく左右される。

2. ウイルス認識TLRにおけるユビキチン化の関与

現在までのところ、マウスでは13種類のTLRが報告されている。TLR1,TLR2,TLR5,TLR6は細菌、真菌由来の細

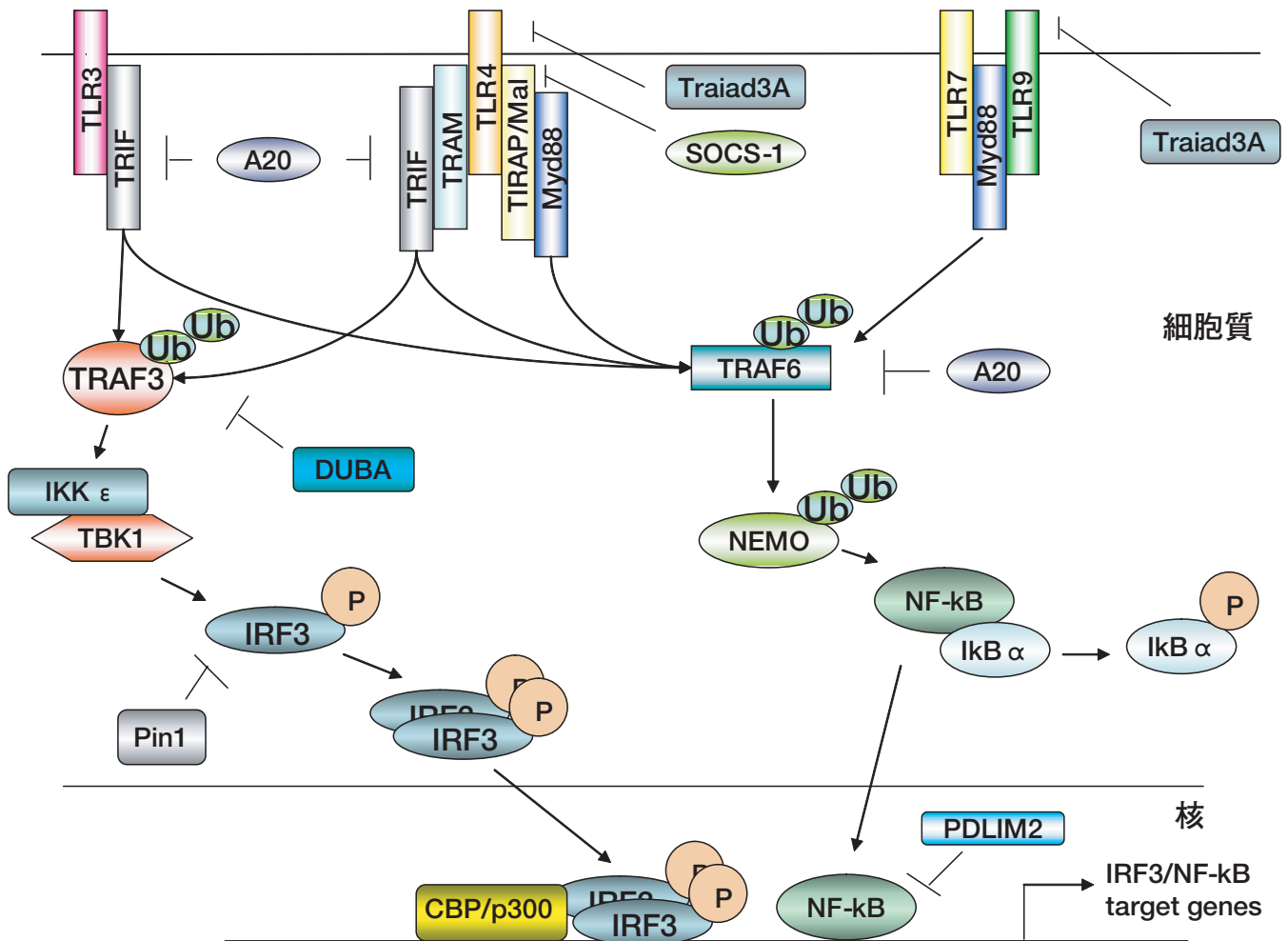


図2 ウイルス認識 TLR シグナル経路におけるユビキチン化制御 (簡略図)

胞壁、外膜由来の抗原を認識する。一方、TLR3, TLR4, TLR7, TLR9 は細菌またはウイルス由来の核酸抗原を認識することにより、抗ウイルス応答を活性化している²⁾ (図2)。

TLR3 は、レオウイルス、ウエストナイルウイルスなどの RNA ウイルスの増幅により産生される二本鎖 RNA および合成二本鎖 RNA である poly I:C を抗原として認識する。

TLR4 はウイルス関連としては、マウスレトロウイルス MMTV (mammary tumor virus), RSV (respiratory syncytial virus) の F protein, マウス白血病ウイルスのエンペロープタンパク質, コクサッキーウイルス B4 感染によりサイトカインが誘導されることから、ウイルス感染に対しても重要な受容体であることが示唆されている。TLR4 は E3 ユビキチンリガーゼである Triad3A (two RING fingers and DRIL (double RING finger linked) 3A) によりユビキチンプロテアソーム依存的な分解を受け産生量低下を引き起こすことが報告されている⁶⁾。

TLR7 は各種ウイルス由来の一本鎖 RNA (ssRNA) を、

TLR9 は非メチル化 CpG DNA を認識する。ウイルス感染時、免疫担当細胞の一つである樹状細胞のサブセットである pDC (plasmacytoid DC) は TLR7, TLR9 を高発現しているという特徴を持ち、pDC におけるウイルス認識時には TLR システムが利用される。Triad3A は TLR9 に対しても分解能を持つことが報告されている⁶⁾。

3. ウイルス認識 non-TLR におけるユビキチン化の関与

RIG-I, MDA5 は細胞質内の RNA ウイルス構成成分を認識するが、RIG-I は SEV, VSV, パラミキソウイルス, JEV (インフルエンザウイルス), 日本脳炎ウイルスなど、MDA5 は EMCV (encephalomyocarditis virus; 脳心筋炎ウイルス), TMEV (Theiler's murine encephalomyelitis virus) など、認識するウイルスがウイルス側の RNA 構造により異なる^{7,24)}。ウイルスを認識したこれらの受容体はミトコンドリア上にある IPS1 を介して下流にシグナルを伝達する (図3)。

最近、我々はユビキチン E3 リガーゼである RNF125

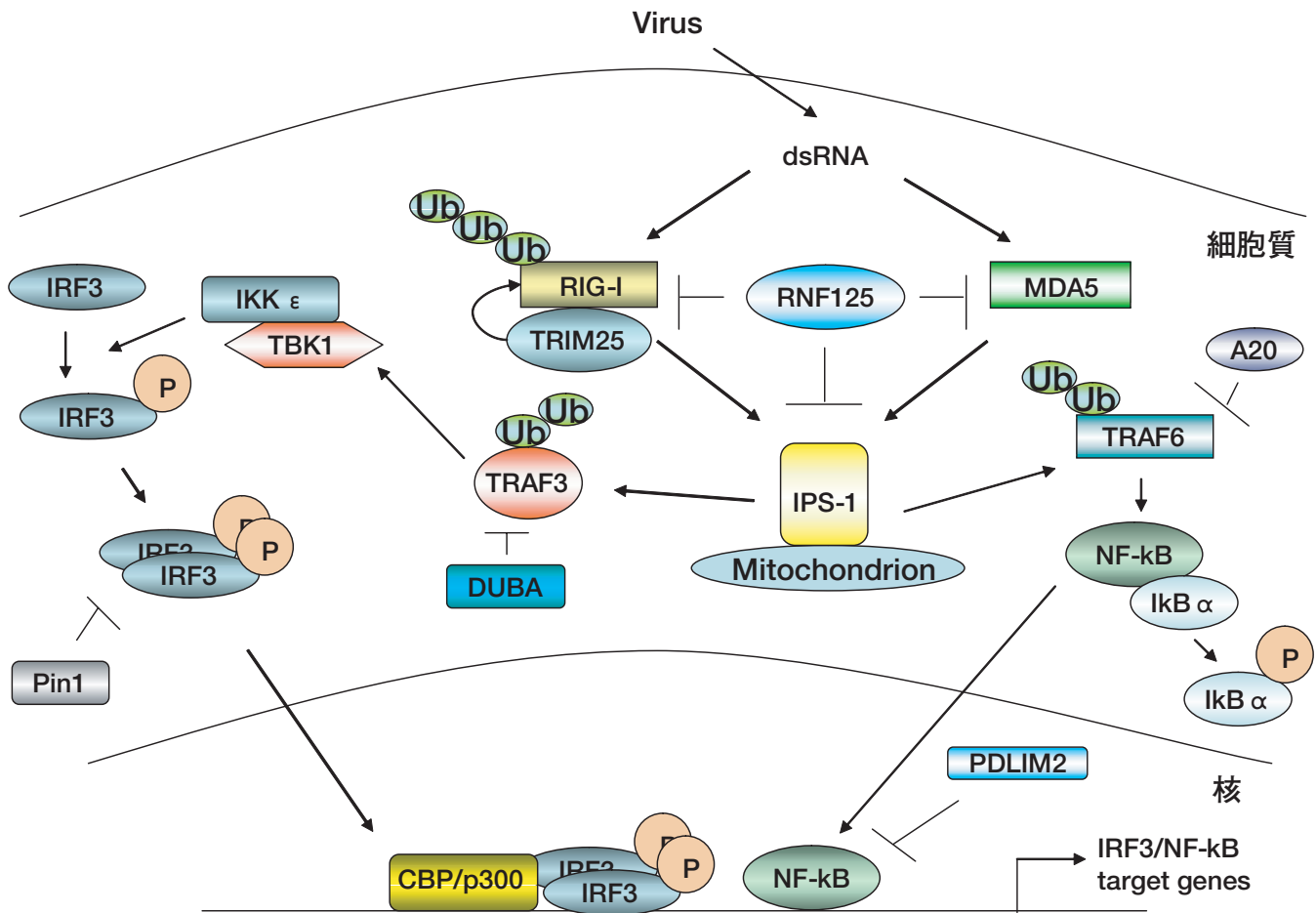


図3 ウイルス認識 non-TLR シグナル経路におけるユビキチン化制御 (簡略図)

(ring finger protein 125) がこの三者の CARD domain に結合し、ユビキチンプロテアソーム依存的に分解していることが明らかにした³⁾。それぞれに対するユビキチン化および分解の程度は異なるが、RNF125 を強制発現するとセンダイウイルスおよび poly I:C 刺激後の IFN β 産生が低下し、逆に siRNA で内源性 RNF125 をノックダウンすると増加が見られた。また RNF125 は同時に RIG-I/MDA5 と IPS1 の結合力を低下させることで下流にシグナルを伝達させないようにしている可能性も考えられている。ウイルス感染後、RIG-I のタンパク量は増加するが、蓄積された RIG-I が分解されないことはシグナルの持続亢進に繋がるため、RNF125 の存在は意義深い。さらに、我々は RNF125 自身のタンパク質量および E3 酵素活性が、ウイルス感染後 IFN で誘導される ISG15 (IFN stimulated gene 15kDa) や E2 の一つである UbcH8 によって調節されていることも明らかにした⁴⁾。

また、逆に RIG-I をユビキチン化活性化することで、RIG-I シグナルを正に調節するユビキチン E3 リガーゼ TRIM25 (Tripartite motif protein 25) が報告された⁹⁾。

TRIM25 は RIG-I の CARD domain (Lys172) にリジン K63 タイプのユビキチン化修飾することで、IPS1 の CARD と結合できるようにする。TRIM25 はウイルス感染や IFN で誘導されるため、正のフィードバック調節を行っていると考えられている。また、この実験から TRIM25 欠損 MEF (mouse embryonic fibroblasts) においては RIG-I 依存性の IFN 産生が全く見られないことが示された。TRIM25 については、14-3-3 σ を分解する E3 ユビキチンリガーゼとしても報告されており³⁴⁾、ノックアウトマウスは乳癌となる病態を示すことも明らかになっている。

MDA5 においてはまだ報告はないが、同様な活性化 E3 リガーゼの存在が考えられる。

細胞質内において B-DNA が認識されると IFN α/β が発現誘導されることから、TLR9 非依存的なセンサーの存在が推測されていた¹⁴⁾。最近細胞内 DNA センサーとして、DAI (DLM-1/ZBP1) が報告された³¹⁾。この報告では、DNA ウイルスである HSV-1 (herpes simplex virus-1) を感染させた細胞では DAI をノックダウンすると IFN β mRNA の産

生が下がるのに対し、RNA ウイルスである NDV を感染させた細胞では DAI をノックダウンさせても IFN β mRNA の産生に変化が見られない。B-DNA 処理により DAI が誘導されてくることから、この DAI に関しても活性を左右するユビキチン E3 リガーゼの存在が推測され、今後の研究が期待される。

4. ウイルス認識下流シグナルにおけるユビキチン化の関与, 役割

TLR 下流は TLR3 や TLR4 が関与する TRIF (TIR domain containing adaptor inducing interferon β) 依存性経路と TLR4, TLR7, TLR9 が関与する MyD88 (myeloid differentiation 88) 依存性経路の二つに分類される。

TRIF (TLR4 のアダプタータンパク質でもある) は脱ユビキチン化領域とユビキチンリガーゼドメインを含むジックフィンガー領域を有しているタンパク質 A20 によって分解されることで負に制御されるという報告がある²⁰⁾。この報告では A20 は TLR3 経路および RIG-I 経路に対しても TBK1/IKKi に会合することで IRF3 や IRF7 の活性化の阻害を引き起こすことも示されている。また、TLR4 アダプタータンパク質である TIRAP (TIR domain containing adaptor protein) /Mal (MyD88 adaptor like) は Btk キナーゼによるリン酸化を受けると SOCS-1 (suppressor of cytokine signaling 1) のユビキチン化活性によって分解を受けることが報告されている²²⁾。MyD88 を介した IFN および炎症性サイトカインの産生誘導にはユビキチン E3 リガーゼである TRAF6 (TNF receptor associated factor 6) の K63 タイプの自己ユビキチン化活性が必須であることが明らかとなっている^{10,19)} が、A20 はまた、この TRAF6 の自己ユビキチン化を脱ユビキチン化することで NF- κ B の活性化を負に制御することが報告されている^{5,27)}。また、TRAF6 は菌体成分である MDP の刺激や、IL-1, LPS 刺激を受けると IKK- γ / NEMO (NF- κ B essential modulator) を K63 タイプのユビキチン化修飾し、NF- κ B の活性化を促すことが報告されている¹⁾。最近、NEMO がウイルス感染後の IFN 産生に重要な役割をしていることが示された⁴¹⁾。おそらくウイルス感染後の NEMO の活性化にも TRAF6 が関与していることが推測される。NEMO に関しては K63 タイプのユビキチン化修飾が炎症反応誘導に重要であることが示唆されている³⁵⁾ が、TRAF6 によるユビキチン化以外の活性化経路があることも報告されており大変興味深い。また、癌抑制因子である CYLD (cylindromatosis) が、NEMO のおそらく K63 タイプのユビキチン化を脱ユビキチン化することで負に制御しているということも示されている¹⁸⁾。さらにユビキチン E3 リガーゼである TRAF3 についても、K63 タイプの自己ユビキチン化が、TRIF および MyD88 依存性両方の IFN 産生誘導経路において重要な分子であることが、TRAF3 欠損マウ

スを用いた実験により示されている^{11,25)}。最近、この TRAF3 の自己ユビキチン化に対して脱ユビキチン化活性を示す分子 DUBA (Deubiquitinating enzyme A) が同定され、I 型 IFN 産生を負に制御していることが報告されている¹⁷⁾。

RIG-I 下流においても TRAF3 や TRAF6 のユビキチン化活性が正の制御に働いており、IFN 産生、炎症性サイトカインの産生に重要な役割を果たしていることが考えられている。

K63 タイプのポリユビキチン化は E2 ユビキチン結合酵素として Ubc13 が重要であることが知られている。しかしながら、Ubc13 欠損 MEF において IL-1 β 刺激後の TRAF6 の自己ユビキチン化に影響は見られず、NEMO に対するユビキチン結合能が減少することが報告されている³⁸⁾。

また、異性化反応酵素である Pin1 が、二本鎖 RNA 刺激後に誘導される IRF3 のセリン 339 番目のリン酸化により IRF3 と結合し、何らかのユビキチン E3 リガーゼをリクルートすることによってユビキチン化分解を引き起こすことが報告されている²⁸⁾。一方で、Pin1 は、p65/RelA と I κ B α の結合を阻害することにより、NF- κ B 経路の活性化に寄与することも報告されている²⁶⁾。

炎症反応誘導において、IKK キナーゼの働きにより I κ B α がリン酸化されユビキチン化分解 (E3 リガーゼは不明) を受けることにより転写因子 NF- κ B が核移行することが重要であることは有名である。最近 E3 リガーゼの PDLIM2 (nuclear protein 2 containing both PDZ and LIM domain) が NF- κ Bp65/RelA を核内でユビキチンプロテアソーム依存的に分解することにより、本シグナル経路の活性化を収束させることが PDLIM2 欠損 MEF を用いた実験により明らかにされた³²⁾。p65/RelA に関してはさらに SOCS-1 によるユビキチン化分解や、culin containing E3 ubiquitin 複合体上で p65/RelA のユビキチン化分解を促進する因子 COMMD1²¹⁾ など、複数のユビキチン化因子により制御されている。

5. おわりに

ユビキチン E3 リガーゼは、ウイルス感染免疫をつかさどる様々なタンパク質に、色々なタイミングで、異なった修飾を付加することにより、多くの機能を与えている(表 1)。

本稿で紹介した E3 リガーゼはユビキチン化修飾の氷山の一角にすぎず、多数の未知な E3 リガーゼが免疫シグナル関連分子に機能していると考えられる。

現在では、ユビキチンが免疫のみならず、多くの生命現象に関与していることは言うまでもない。また本稿では宿主側のユビキチン E3 リガーゼの機能について紹介したが、ウイルス側にも宿主免疫から逃れるために機能すると考えられるユビキチン E3 リガーゼが多数コードされている。したがって、それぞれのシグナルに関わる因子の更なる解析

表1 ウイルス認識シグナル経路に関与するユビキチン化関連因子、その基質および機能

E3, E3 inducible, DUB	基質	機能
Triad3A	TLR3,TLR4,TLR9	分解
SOCS1	リン酸化TIRAP/Mal, NF- κ B p65/RelA	分解
TRAF3	TRAF3	活性化
TRAF6	TRAF6,RIP1,NEMO/IKK γ	活性化
RNF125	RIG-I,MDA5,IPS1	分解
TRIM25	RIG-I, 14-3-3 σ	活性化 (RIG-I)、分解 (14-3-3 σ)
Pin1	リン酸化IRF3 (間接的)	分解
COMMD1	NF- κ B subunits (間接的)	分解 (culin containing E3 ligase complexによる)
PDLIM2	NF- κ B p65/RelA	分解
A20	TRIF, TRAF6	分解 (TRIF)、脱ユビキチン化 (TRAF6)
DUBA	TRAF3	脱ユビキチン化
CYLD	NEMO/IKK γ	脱ユビキチン化

や、既知のユビキチン E3 リガーゼについて詳細な機能解析をするとともに、いまだ未知の E3 リガーゼを探索することは、複雑に絡み合う自然免疫のシグナルネットワークを解明することにつながると同時に、炎症性、自己免疫疾患などの難治疾患に対する治療にむけて多くの可能性を与えることと考える。

文 献

- Abbott DW., Yang Y., Huttli JE., Madhavarapu S., Kelliher MA., Cantley LC.: Coordinated regulation of Toll-like receptor and NOD2 signaling by K63-linked polyubiquitin chains., *Mol Cell Biol.* 27(17):6012-25, 2007.
- Akira S., Uematsu S., Takeuchi O.: Pathogen recognition and innate immunity., *Cell.* 124(4):783-801,2006.
- Arimoto K., Takahashi H., Hishiki T., Konishi H., Fujita T., Shimotohno K.: Negative regulation of the RIG-I signaling by the ubiquitin ligase RNF125., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104(18):7500-5, 2007.
- Arimoto K., Konishi H., Shimotohno K.: UbcH8 regulates ubiquitin and ISG15 conjugation to RIG-I., *Mol Immunol.* 45(4):1078-84, 2008.
- Boone DL., Turer EE., Lee EG., Ahmad RC., Wheeler MT., Tsui C., Hurley P., Chien M., Chai S., Hitotsumatsu O., McNally E., Pickart C., Ma A.: The ubiquitin-modifying enzyme A20 is required for termination of Toll-like receptor responses., *Nat Immunol.* 5(10):1052-60, 2004.
- Chuang TH., Ulevitch RJ.: Triad3A, an E3 ubiquitin-protein ligase regulating Toll-like receptors., *Nat Immunol.* 5(5):495-502, 2004.
- Cui S., Eisenacher K., Kirchofer A., Brzózka K., Lammens A., Lammens K., Fujita T., Conzelmann KK., Krug A., Hopfner KP.: The C-terminal regulatory domain is the RNA 5'-triphosphate sensor of RIG-I., *Mol Cell.* 29(2):169-79, 2008.
- Fitzgerald KA., McWhirter SM., Faia KL., Rowe DC., Latz E., Golenbock DT., Coyle AJ., Liao SM., Maniatis T.: IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway., *Nat Immunol.* 4(5):491-6, 2003.
- Gack MU., Shin YC., Joo CH., Urano T., Liang C., Sun L., Takeuchi O., Akira S., Chen Z., Inoue S., Jung JU.: TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity., *Nature.* 446(7138):916-920, 2007.
- Gohda J., Matsumura T., Inoue J.: Cutting edge: TNFR-associated factor (TRAF) 6 is essential for MyD88-dependent pathway but not toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor-inducing IFN-beta (TRIF)-dependent pathway in TLR signaling., *J Immunol.* 173(5):2913-7, 2004.
- Häcker H., Redecke V., Blagoev B., Kratchmarova I., Hsu LC., Wang GG., Kamps MP., Raz E., Wagner H., Häcker G., Mann M., Karin M.: Specificity in Toll-like receptor signalling through distinct effector functions of TRAF3 and TRAF6., *Nature.* 439(7073):204-7,2006.
- Hemmi H., Takeuchi O., Sato S., Yamamoto M., Kaisho T., Sanjo H., Kawai T., Hoshino K., Takeda K., Akira S.: The roles of two IkappaB kinase-related kinases in lipopolysaccharide and double stranded RNA signaling and viral infection., *J Exp Med.* 199(12):1641-50, 2004.
- Honda K., Ohba Y., Yanai H., Negishi H., Mizutani T., Takaoka A., Taya C., Taniguchi T.:Spatiotemporal regulation of MyD88-IRF-7 signalling for robust type-I interferon induction., *Nature.* 434(7036):1035-40, 2005.
- 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(1):40-8, 2006.
- 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 e Sousa C., Matsuura Y., Fujita T., Akira S.: Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses., *Nature.* 441(7089):101-5, 2006.
- 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(10):981-8, 2005.
- Kayagaki N., Phung Q., Chan S., Chaudhari R., Quan

- C., O'Rourke KM., Eby M., Pietras E., Cheng G., Bazan JF., Zhang Z., Arnott D., Dixit VM.: DUBA: a deubiquitinase that regulates type I interferon production., *Science*. 318(5856):1628-32, 2007.
- 18) Kovalenko A., Chable-Bessia C., Cantarella G., Israël A., Wallach D., Courtois G.: The tumour suppressor CYLD negatively regulates NF-kappaB signalling by deubiquitination., *Nature*. 424(6950):801-5, 2003.
 - 19) Lamothe B., Besse A., Campos AD., Webster WK., Wu H., Darnay BG.: Site-specific Lys-63-linked tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 auto-ubiquitination is a critical determinant of I kappa B kinase activation., *J Biol Chem*. 282(6):4102-12, 2007.
 - 20) Lin R., Yang L., Nakhaei P., Sun Q., Sharif-Askari E., Julkunen I., Hiscott J.: Negative regulation of the retinoic acid-inducible gene I-induced antiviral state by the ubiquitin-editing protein A20., *J Biol Chem*. 281(4):2095-103, 2006.
 - 21) Maine GN., Mao X., Komarck CM., Burstein E.: COMMD1 promotes the ubiquitination of NF-kappaB subunits through a cullin-containing ubiquitin ligase., *EMBO J*. 26(2):436-47, 2007.
 - 22) Mansell A., Smith R., Doyle SL., Gray P., Fenner JE., Crack PJ., Nicholson SE., Hilton DJ., O'Neill LA., Hertzog PJ.: Suppressor of cytokine signaling 1 negatively regulates Toll-like receptor signaling by mediating Mal degradation., *Nat Immunol*. 7(2):148-55, 2006.
 - 23) Meylan E., Curran J., Hofmann K., Moradpour D., Binder M., Bartenschlager R., Tschopp J.: Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus., *Nature*. 437(7062):1167-72, 2005.
 - 24) Nallagatla SR., Hwang J., Toroney R., Zheng X., Cameron CE., Bevilacqua PC.: 5'-triphosphate-dependent activation of PKR by RNAs with short stem-loops., *Science*. 318(5855):1455-8, 2007
 - 25) Oganessian G., Saha SK., Guo B., He JQ., Shahangian A., Zarnegar B., Perry A., Cheng G.: Critical role of TRAF3 in the Toll-like receptor-dependent and -independent antiviral response., *Nature*. 439(7073):208-11, 2006.
 - 26) Ryo A., Suizu F., Yoshida Y., Perrem K., Liou YC., Wulf G., Rottapel R., Yamaoka S., Lu KP.: Regulation of NF-kappaB signaling by Pin1-dependent prolyl isomerization and ubiquitin-mediated proteolysis of p65/RelA., *Mol Cell*. 12(6):1413-26, 2003.
 - 27) Saitoh T., Yamamoto M., Miyagishi M., Taira K., Nakanishi M., Fujita T., Akira S., Yamamoto N., Yamaoka S.: A20 is a negative regulator of IFN regulatory factor 3 signaling., *J Immunol*. 174(3):1507-12, 2005.
 - 28) Saitoh T., Tun-Kyi A., Ryo A., Yamamoto M., Finn G., Fujita T., Akira S., Yamamoto N., Lu KP., Yamaoka S.: Negative regulation of interferon-regulatory factor 3-dependent innate antiviral response by the prolyl isomerase Pin1., *Nat Immunol*. 7(6):598-605, 2006.
 - 29) Sato M., Suemori H., Hata N., Asagiri M., Ogasawara K., Nakao K., Nakaya T., Katsuki M., Noguchi S., Tanaka N., Taniguchi T.: Distinct and essential roles of transcription factors IRF-3 and IRF-7 in response to viruses for IFN-alpha/beta gene induction., *Immunity*. 13(4):539-48, 2000.
 - 30) 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(5):669-82, 2005
 - 31) Takaoka A., Wang Z., Choi MK., Yanai H., Negishi H., Ban T., Lu Y., Miyagishi M., Kodama T., Honda K., Ohba Y., Taniguchi T.: DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response., *Nature*. 448(7152):501-5, 2007.
 - 32) Tanaka T., Grusby MJ., Kaisho T.: PDLIM2-mediated termination of transcription factor NF-kappaB activation by intranuclear sequestration and degradation of the p65 subunit., *Nat Immunol*. 584-91, 2007.
 - 33) 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-{alpha} induction., *J Exp Med*. 201(6):915-23, 2005.
 - 34) Urano T., Saito T., Tsukui T., Fujita M., Hosoi T., Muramatsu M., Ouchi Y., Inoue S.: Efp targets 14-3-3 sigma for proteolysis and promotes breast tumour growth., *Nature*. 417(6891):871-5, 2002.
 - 35) Wu CJ., Conze DB., Li T., Srinivasula SM., Ashwell JD.: Sensing of Lys 63-linked polyubiquitination by NEMO is a key event in NF-kappaB activation., *Nat Cell Biol*. 8(4):398-406, 2006.
 - 36) 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(6):727-40, 2005.
 - 37) Yamamoto M., Sato S., Hemmi H., Hoshino K., Kaisho T., Sanjo H., Takeuchi O., Sugiyama M., Okabe M., Takeda K., Akira S.: Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science*. 301(5633):640-3, 2003.
 - 38) Yamamoto M., Okamoto T., Takeda K., Sato S., Sanjo H., Uematsu S., Saitoh T., Yamamoto N., Sakurai H., Ishii KJ., Yamaoka S., Kawai T., Matsuura Y., Takeuchi O., Akira S.: Key function for the Ubc13 E2 ubiquitin-conjugating enzyme in immune receptor signaling., *Nat Immunol*. 7(9):962-70, 2006.
 - 39) 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(7):730-7, 2004.
 - 40) 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(5):2851-8, 2005.
 - 41) Zhao T., Yang L., Sun Q., Arguello M., Ballard DW., Hiscott J., Lin R.: The NEMO adaptor bridges the nuclear factor-kappaB and interferon regulatory factor signaling pathways., *Nat Immunol*. 8(6):592-600, 2007.

Regulation of viral recognition signaling by ubiquitin modification

Kei-ichiro ARIMOTO¹ and Kunitada SHIMOTOHNO²

¹ Laboratory of Human Tumour Viruses, Institute for Virus Research, Kyoto University

53 Shogoin Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto, Japan

e-mail: arimoto@keikei.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

² Center for Integrated Medical Research, Keio University

As a defense mechanism against infection, host cells have evolved sensor molecules which detect pathogen components directly and induce protective responses against the infection. TLRs, well known receptors, recognize a pathogen on the surface of cells or endosome/lysosome. Many pathogens penetrate into cytoplasm, in where non-TLR sensors recognize pathogen components including double-stranded RNA (dsRNA). On the downstream of each sensor, a variety of functional signaling molecules are activated to produce various cytokines upon the microbial invasion to induce host defense responses. Because that cytokines produced to regulate the host defense responses are known to affect cell proliferation also, the level of these molecules are needed to be controlled tightly, which means requisites of negative regulation of the signaling activated by pathogen after the completion of proper immune responses. Recent studies suggest important roles of some ubiquitin systems in this regulation. Here we focus, in particular, ubiquitin conjugation to signaling molecules by virus activation and like to show how ubiquitin signaling plays roles in this regulation by introducing some recent works.