

## 2. DNA を認識する細胞内自然免疫

阿部 隆之

Department of System Biology, and Microbiology & Immunology, Columbia University, New York, NY 10032 USA

STING (stimulator of interferon (IFN) genes) は、様々な RNA 及び DNA ウイルス感染に対する生体防御機構に重要な役割を果たす、小胞体局在膜蛋白質として同定された分子である。一方、STING はウイルス及び細菌由来の DNA 成分に対する宿主自然免疫応答の誘導に重要な役割を示すことが報告されているが、その分子機序は明らかにされていなかった。我々の近年の報告から、STING がウイルス由来のゲノム DNA のみならず、ISD (IFN-stimulatory DNA) と呼ばれる合成二重鎖 DNA、さらにアポトーシス細胞由来の自己 DNA 成分と複合体を形成し得る事を明らかにした。STING による様々な DNA 成分の認識は、STING の核膜周辺領域へのダイナミックな局在変化を誘発し、IRF3 のリン酸化キナーゼである TBK1 の活性化を介して IFN を誘導する。さらに、STING は微生物由来である非自己の DNA 成分のみならず、自己の DNA 成分の認識を介した慢性的な炎症性応答の制御にも関与している可能性が示唆されている。本トピックスにおいては、STING の DNA 成分に対する認識機構に加え、筆者らのグループが近年報告した STING 依存的な自然免疫シグナルの制御機構についても言及する。

### はじめに

我々の生体内には、細菌やウイルス感染に対する初期の生体防御反応に関与する認識分子（外来異物に対するセンサー分子とも呼称される）が存在することが、近年の自然免疫学の進展から明らかにされている。これらの自然免疫関連分子は、病原微生物の感知に伴いインターフェロン (Interferon; IFN) や炎症性サイトカインなどのエフェクター分子の発動を介して感染巣の拡大抑止に貢献する。自然免疫関連分子の同定における初期のブレークスルーは、様々な細菌微生物由来の構成物（グラム陰性菌、陽性菌由来の脂質構成壁や非メチル化 CpG モチーフ配列を有する DNA ゲノムなど）を特異的に認識する Toll 様受容体 (TLR; Toll-like receptor) の報告が挙げられる<sup>1-3)</sup>。TLR は、主に細胞の形質膜上での異物感知が主体となるが、TLR ファ

ミリーのなかでも、TLR7 や TLR9 のようにウイルス由来の核酸成分 (RNA 及び DNA ゲノム) を特定の細胞小器官内で認識するものも報告されている (図 1)。次に、RNA ウイルス感染等の複製過程で産生されるウイルス RNA ゲノムに対するセンサー分子として、RIG-I (Retinoic acid-inducible gene I) と MDA5 (Melanoma differentiation-associated protein5) と呼ばれる RNA ヘリカーゼ分子が同定された<sup>4,5)</sup>。TLR によるウイルス RNA の認識機構とは異なり、RIG-I と MDA5 は、主に、細胞質内領域で暴露されたウイルス由来のゲノム RNA の感知に関与しており、ウイルス種によって両分子による識別が異なることが報告されている<sup>6)</sup> (図 1)。では、I 型単純ヘルペスウイルス (HSV-1; Herpes simplex virus-type I) などに代表される DNA ウイルスや、IFN の誘導を惹起するそれらを模倣した合成 DNA の導入、あるいは自己ならびに非自己由来の DNA 成分に関与する、いわゆる DNA を直接感知するセンサー分子は存在するのか？この残された命題に対しては、近年いくつかの候補分子が報告されてきた<sup>7,8)</sup>。これらの候補分子群は、HSV 感染に対する初期自然免疫応答には関与するものの、特定の細胞種にその機能が限局する傾向が示唆されている。また、多くの候補分子については、遺伝子改変マウスを用いた系での立証が残されていたため、依然として本質的な DNA センサーの同定には統一し

### 連絡先

Department of System Biology, and Microbiology & Immunology, Columbia University, New York, NY 10032 USA

TEL: 212-305-2942

E-mail: ta2413@columbia.edu

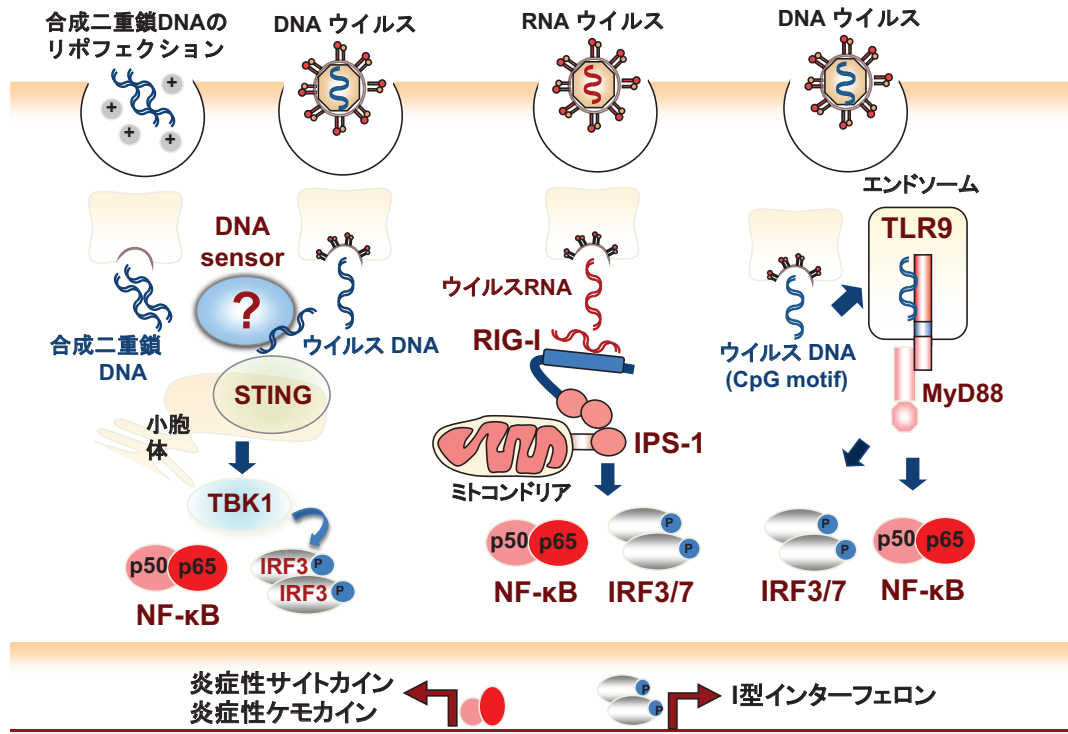


図1 核酸成分を認識する自然免疫シグナルの概要

ウイルスなどの核酸成分を認識する自然免疫分子は、TLRのような特定の細胞内小器官で認識するものと、RIG-Iや未同定のDNAセンサーなどの細胞質内での認識に関わるものに大別される。TLRを介したシグナル伝達はアダプターMyD88が、RIG-Iを介したシグナル伝達はアダプターIPS-1によりそれぞれ制御される。細胞質内でのDNAの認識には、アダプターSTINGが重要な役割を有し、IRF3のリン酸化キナーゼであるTBK1の活性化を介してDNA成分依存的な自然免疫シグナルが制御される。

た見解が得られていない背景があった。

#### TLR非依存的なDNAの自然免疫誘導

IFN誘導に関わる自然免疫応答を強く誘発するウイルスの構成因子は、主にウイルス粒子に内包されているDNAやRNAなどの核酸成分に強く依存する<sup>7)</sup>。これまでに、ウイルスのエンベロープやキャプシッド蛋白質の断片が自然免疫応答を惹起することも報告されているが、現在では核酸成分に対するコンセンサスが主流である。核酸成分に対する自然免疫応答の詳細な分子機構が明らかにされたのは、DNAウイルスや細菌微生物由来の非メチル化CpGモチーフ配列を有するゲノムDNA成分と反応するTLR9の発見によるものである<sup>9)</sup>。TLR9の発見は主にマクロファージや樹状細胞のような免疫担当細胞に分布し、エンドソームやライソゾームなどの細胞小器官内にて非メチル化CpG DNA成分を認識し、NF- $\kappa$ BやMAPK(Mitogen activated protein kinase)などの炎症性シグナルを強く誘発する。また、形質様樹状細胞内でのTLR9の発見は、主にIFNを強く産生することが報告されている<sup>10,11)</sup>。TLR9によるこれら一連のシグナル応答にはMyD88(Myeloid

differentiation primary response gene 88)と呼ばれるシグナルアダプター分子が重要な役割を果たす。RNAゲノムに対しては、TLR7がTLR9と同様の分子機構を介してシグナル伝達に貢献する<sup>12,13)</sup>。後年、マクロファージなどの免疫担当細胞に加え、線維芽細胞などの組織由来上皮細胞などにおいて、TLR9非依存的な自然免疫応答の存在が石井やStetsonらによって報告された<sup>14,15)</sup>。この場合は、IFNを惹起することが知られているISDや、B-DNAと呼ばれる右巻き螺旋形状を模倣した500-600塩基対の同じく合成二重鎖DNAが実験系に用いられており、それぞれTLR9非依存的にIFNを誘導することが示されている。また、アデノ、ワクシニア、ヘルペスウイルスなどのDNAウイルス感染に対してもTLR9非依存的なIFN及び炎症性サイトカインの産生経路が示唆されている<sup>16-20)</sup>。筆者らの過去の知見からも、例えば昆虫のバキュロウイルスのDNAがTLR9/MyD88非依存的にIFNを強く惹起することを早くから見出している<sup>21,22)</sup>。これらTLR9非依存的な自然免疫の誘導は、クロロキンやバフィロマイシンなどのエンドソームの酸性阻害剤添加などの影響を受けないことから、特定の細胞内小器官を介さない、すなわち細胞質

表1 DNA センサーの候補分子

センサー	アダプター	Sensing	DNA結合	KOマウス	リガンド	引用文献
DAI/ZBP1	?	細胞質	有	有	B-DNA / Viral DNA	23)
IFI16/p204	STING	細胞質/核	有	無	ISD/ Viral DNA	26)
DDX41	STING	細胞質	有	無	B-DNA / Viral DNA	30)
MRE11	STING	細胞質	有	無	ISD/ Viral DNA	31)
cGAS (C6orf150)	STING	細胞質	有	有	ISD/ Viral DNA	54) 59)
STING	-	細胞質	有	有	cGAMP/ Viral DNA	32) 38) 45)
TLR9	MyD88	エンドソーム	有	有	CpG DNA	9)

内での IFN 誘導シグナル経路の存在が示唆された。この時点では、TLR9 以外の如何なる分子が細胞質内の DNA の感知に関与しているのかは不明であったが、少なくとも、IRF3 のリン酸化キナーゼである TBK1 と IRF3 が TLR 非依存的な IFN の誘導を介した自然免疫誘導に重要であることが示唆された<sup>14, 15)</sup> (図 1)。

#### DNA センサー候補分子による自然免疫誘導

2007 年頃より、細胞質内にて DNA を感知するセンサー候補分子の報告が相次ぐが、本稿では特に DAI (DNA activator of interferon), IFI16 (IFN gamma-inducible protein 16), DDX41 (DEAD box polypeptide 41) 及び MRE11 (Meiotic recombination 11) に焦点を充て解説する (表 1)。DAI は上述の B-DNA 型の DNA の刺激に伴う IFN 誘導因子の一つとして同定された分子である<sup>23)</sup>。DAI の RNAi による発現抑制は、B-DNA 刺激や HSV 感染に伴う IFN の産生低下を示した。DAI の自然免疫シグナルは TBK1 と IRF3 との複合体形成を必要とすることが示されている。後の、DAI 遺伝子欠損マウスの自然免疫応答に関する表現系は野生型のそれと同等であることが報告されたが<sup>24)</sup>、L929 マウス線維芽細胞などの一部の細胞では DAI による機能が保持されているようである<sup>23, 25)</sup>。また、DAI の IFN シグナル誘導におけるアダプター分子としての STING の関与は報告されていない。PYHIN ファミリーに属する IFI16 は、マクロファージ細胞内における IFN 誘導型の DNA と結合する宿主因子として同定された<sup>26)</sup>。IFI16 の主な局在分布は核内であるが、DNA ウイルス感染や合成二重鎖 DNA の細胞内導入において一部が細胞質内に移行することで DNA 感知に寄与する<sup>27-29)</sup>。また、IFI16 による DNA 依存的な IFN の誘導シグナルには、STING をアダプターとして要求することが報告されており、細胞内での相互作用も確認されている。細胞質内 RNA センサーである RIG-I は、DEXD/H ファミリーに属

する RNA ヘリケース分子であるが、RIG-I 以外にも自然免疫シグナルに関与する分子がこれらのファミリーより報告されている。Zhang らは、59 種類の DEXD/H 分子に対する RNAi スクリーニングから、DNA 依存的な IFN の誘導に関与する候補分子として DDX41 を報告した<sup>30)</sup>。DDX41 は、線維芽細胞などよりもむしろ、マクロファージや樹状細胞などの免疫細胞内における DNA 感知分子として機能し、IFI16 同様に STING をシグナルアダプターとして要求することが知られている。近年、2 本鎖 DNA 切断修復機構における損傷部位の感知および修復に機能する MRE11 分子の、DNA 依存的な自然免疫応答への関与が報告されている<sup>31)</sup>。MRE11 は、ISD 刺激依存的な発現誘導因子として同定された ATM 分子のシグナル活性経路に関与する分子として同定された。MRE11 の RNAi による発現抑制や MRE11 変異体発現細胞 (毛細血管拡張性運動失調症様疾患 (ATLD) に認められる欠失変異体) では、ISD 刺激による IFN の顕著な抑制効果を示した。興味深い点として、MRE11 の発現抑制により、STING の DNA 刺激に伴う局在変化が阻害され、且つ、核膜周辺領域での STING との共局在を示したことが挙げられる。

これらの主要な DNA センサー候補分子群は、いずれも細胞内に導入された DNA との結合様式を示し、且つ DAI 以外の分子は STING を下流のシグナルアダプター分子として要求する。

#### STING による DNA の認識機構の解析

石川と Barber らによって報告された STING は、4 回膜貫通型の小胞体局在蛋白質であり、種々の DNA 刺激に対する IFN の産生誘導に必須のアダプター分子であることが示唆されている<sup>32-37)</sup>。また、人工合成された DNA の細胞内導入や DNA ウイルスの感染に伴い核膜周辺領域へのダイナミックな局在変化を誘発することが知られている<sup>38, 39)</sup>。この局在変化の分子機構は詳細には解析されていないが、

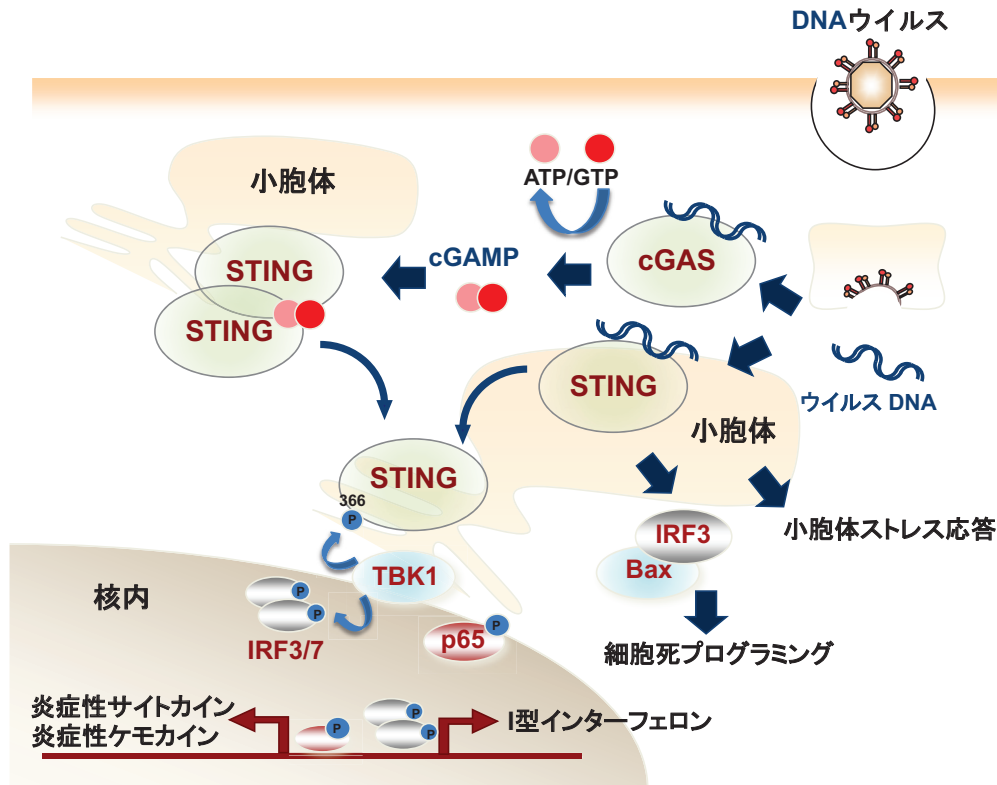


図2 cGAS/STINGによるDNAを認識する自然免疫シグナルの概要

DNAウイルスの感染に伴う細胞質内へのDNAゲノムの暴露は、cGASによる認識を介した新規セカンドメッセンジャー分子(cGAMP)の合成を促進させる。合成されたcGAMPは、アダプターSTINGにより認識され、TBK1/IRF3経路を介したIFNシグナルを惹起する。一方で、STINGによる直接的な細胞質内でのDNAの感知は、IFNシグナルの誘導のみならず、アポトーシスの誘導、ERストレス応答の制御やオートファジーの制御機構などにも寄与する可能性が示唆される。

STING依存的なIFNの産生誘導には必須のプロセスであることが示唆されている。また、DNAウイルスのみならず、水疱性口内炎ウイルスなどのRNAウイルス感染に対する生体防御反応にも重要な役割を果たすことが報告されているが<sup>32)</sup>、RNAウイルス認識機構に対するSTINGの役割には不明な点が多く残されている。

筆者らのグループはSTINGとDNA認識の分子機序を探索する目的で、試験管内及び細胞内における両分子の相互作用の影響をDNAプルダウン法により解析した<sup>40)</sup>。ビオチン末端標識を施した90塩基対の合成二重鎖DNA(dsDNA90あるいはISD90と表記される)をヒト及びマウス線維芽細胞に導入後、UV照射やクロスリンク架橋剤の存在下においてDNAと共沈(結合)する蛋白質の検出を試みた。その結果、架橋剤の非存在下においてもDNAの共沈に伴うSTINGのシグナルが検出されたが、架橋剤の添加により鮮明なSTINGの二量体化のシグナルが検出された。RNAiによるSTINGの発現抑制ならびに、STING欠損マウス線維芽細胞を用いた実験系より、検出されたシグナルがSTINGに特異的なものであることも確

認された。また、DNAの細胞内導入による内在性STINGの特異的な共沈反応は、IFI16やDDX41の遺伝子発現抑制に影響されなかったことから、あるいはSTINGによる直接的なDNAの感知、複合体形成の可能性が示唆された。同様の見解として、IFI16やDDX41の発現抑制は、ISD90刺激に伴うSTINGの局在変化やIFNの産生誘導に影響を及ぼさなかった点が挙げられる。STINGの欠損変異体や点変異体を用いたDNAとの試験管内でのDNAプルダウン実験より、少なくともSTINGのC末端領域(242アミノ酸から292アミノ酸間)がDNAとの複合体形成に重要であることが示唆された。DNAとの複合体形成能を欠失した変異体は、IFNの産生阻害や核膜周辺領域への局在変化に障害を示すことが確認された。STINGの組換え蛋白質を用いた表面プラズモン共鳴法を用いた分子間相互作用の解析より、STINGとDNAの複合体形成において13.7uMという結合解離定数が得られた。これらのデータより、STINGのDNAとの複合体形成には宿主に由来する因子の補助を必要としない可能性が示唆された。

筆者らのグループ以外にも、STINGとDNAとの相互

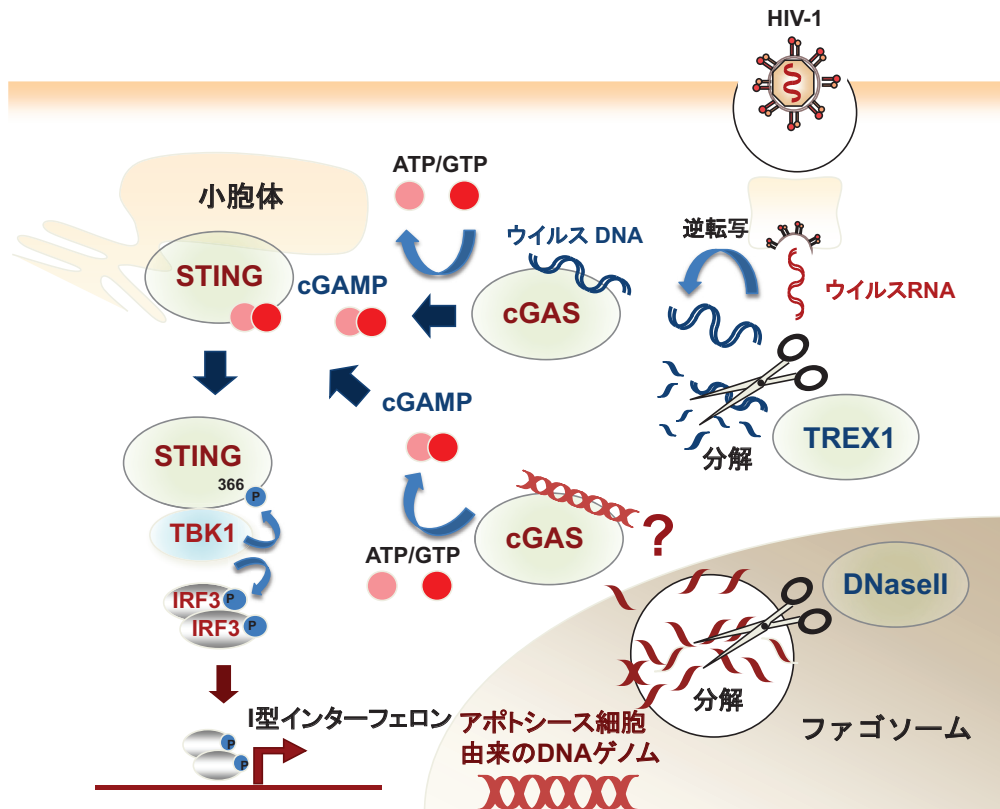


図3 DNAを認識する自然免疫シグナルの制御機構

HIV-1の感染に伴い産生される逆転写ウイルスDNAゲノムは、cGAMPの産生に伴うIFNの産生を惹起する。一方で、TREX1は、逆転写ウイルスDNAゲノムの加水分解を促進し、cGAMPを介したIFNの産生誘導に対し相反的に機能する。アポトーシス細胞に含有されるDNAゲノム(アポトーシスDNA)は、取り込まれたファゴゾーム内でDNaseIIによる加水分解を受ける。DNaseIIを欠損した細胞内では、アポトーシスDNAの過剰な蓄積に伴うSTING依存的なIFNの産生が惹起される。この反応経路に対するcGASの関与は明らかにされていない。

作用の可能性を示唆する論文が報告されている。HTLV-1(成人T細胞白血病ウイルス1型)の逆転写産物由来のウイルスDNAとSTINGの相互作用は、IFNの産生誘導を介する自然免疫誘導よりもむしろ、IRF3/BAXを介した細胞死誘導の制御に関わることが報告されている<sup>41)</sup>。また、*P. falciparum*原虫のDNAゲノムに含有されるアデニン(A)とチミン(T)に富んだ配列部位(AT-richモチーフ)は、STINGとの相互作用を介したIFN誘導を促進させる<sup>42)</sup>。STINGによる直接的なDNAの感知プロセスは、種々の細胞生物学的な機能制御に関与している可能性が示唆される。

#### セカンドメッセンジャー分子による自然免疫誘導

これまでに、上述のDNAセンサー候補分子、あるいはアダプター分子であるSTING自身によるDNA認識を介したIFNの産生誘導機構の可能性が報告されており、いまだDNAセンサーの同定に対する統一の見解が得られない背景があった<sup>43)</sup>。一方で、Cyclic-di GMPに代表される、バクテリア感染の際に産生される細胞内情報伝達物質(セ

カンドメッセンジャー分子)が、TBK1/IRF3を介したIFNを誘導することが過去に報告されている<sup>44)</sup>。UCバークレーのDr. Vanceらは、STINGがCyclic-di GMPのIFN誘導を介する直接的な受容体として機能することを報告した<sup>45)</sup>。膨大なSTINGの欠損変異体および点変異体を用いた結合実験より、STINGのC末端領域の二量体化形成に伴いCyclic-di GMPの結合ドメインが形成される。これらの結果は、Cyclic-di GMPとSTINGとの共結晶構造解析の点からも支持されている<sup>46-52)</sup>。上述のDDX41もCyclic-di GMPの受容体として機能することが報告されているが<sup>53)</sup>、一部の免疫細胞にその特性が限局されている可能性が示唆される。いずれにせよ、STINGは、DNAならびにCyclic-di GMP刺激依存的なIFNの産生誘導に必須の分子であることが証明された。セカンドメッセンジャー分子の産生機序に伴う、STINGの詳細な活性誘導機序が近年報告された。UTサウスウェスタンのDr. Chenらは、ISD刺激に伴うSTINGの活性分子の探索過程において、cGAMP(Cyclic GMP-AMP)と呼ばれるIFNを誘

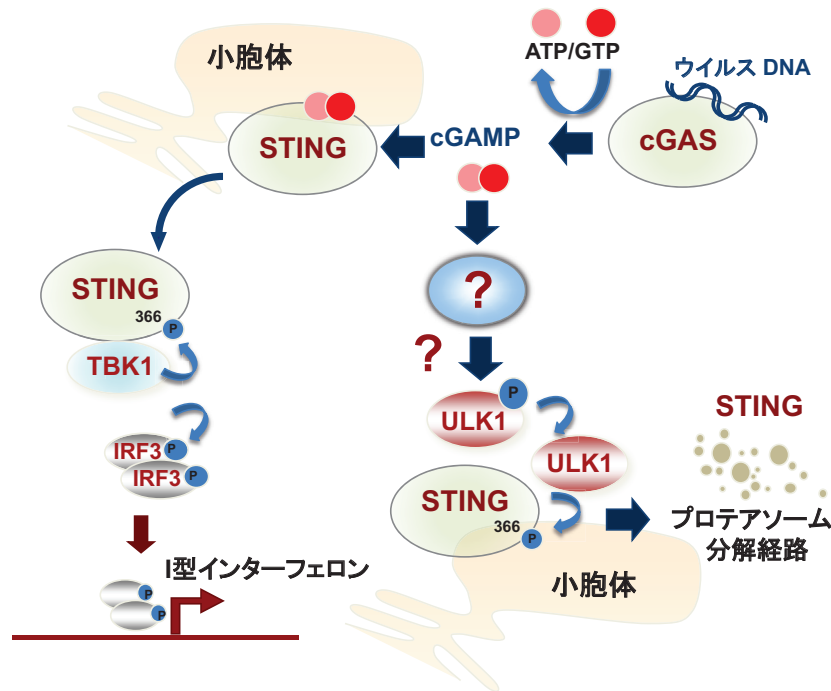


図4 新規セカンドメッセンジャー分子による自然免疫誘導の制御機構

cGASによるDNAの認識は、細胞内でのcGAMPの代謝合成を促進する。合成されたcGAMPは、STINGによる認識を介したIFNの産生を促進させる。その一方で、cGAMPはオートファジー関連分子であるULK1の脱リン酸化反応を誘導し、ULK1の活性化を誘発する。cGAMPによるULK1の詳細な活性機序は明らかにされていないが、STINGとは異なるcGAMP受容体による制御機構が示唆される。活性化されたULK1は、STINGの366番目のセリン残基のリン酸化を誘発し、プロテアソーム依存的な分解経路を介したIFNの反応終息に貢献する。

導する新規のセカンドメッセンジャー分子を同定した<sup>54)</sup>。cGAMPは、DNA刺激に伴い、ATPとGTPをその合成代謝に要求し、グアノシンとアデノシン間に2'-5'ホスホジエステルと3'-5'ホスホジエステルを有するタイプが報告されている。前者をいわゆるNon-Canonical、後者をCanonicalタイプのcGAMPとして区別されており、その活性誘導には種特異性を伴うことが報告されている<sup>55-58)</sup>。さらに、Dr. Chenらは、cGAS (cyclic GMP-AMP Synthase)と命名されたcGAMPの合成酵素である分子をも同定し、cGASがDNAに対する直接的なセンサー分子として機能することが証明された<sup>59)</sup>。これらの結果は、DNAとcGASの共結晶化による構造解析からも支持されている<sup>60-63)</sup>。HSVなどのDNAウイルス感染などにおいても、ウイルスDNAを感知したcGASより産生されたcGAMPによりSTINGが活性化され、TBK1/IRF3を介したIFNの産生が増幅される機序が現時点でコンセンサスを得ている。HIV-1の感染の際に生じる逆転写産物に対する感知にもcGASは関与しており、HIV感染に対する生体防御機構にも重要な役割を演じていることが強く示唆される<sup>64, 65)</sup>。cGASに関しては、ある細胞種にその機能が限定するわけではなく、広範囲な細胞種におけるDNA依存的な自然免

疫誘導の制御に寄与することが遺伝子改変マウスを用いた系より示されている<sup>66)</sup>。cGASの発見に伴うブレークスルーを経て、DNAに対する自然免疫誘導の概略が明らかにされた(図2)。

#### DNAによる自然免疫と自己免疫性疾患との関わり

STINGは、DNAに対するIFN誘導を介した自然免疫シグナルの制御に重要な役割を示す。IFNの産生誘導は、病原微生物の感染に対する生体防御に有効であるが、その産生制御の破綻は自己免疫疾患などの誘発につながる<sup>67)</sup>。これまでに、自己ならびに非自己由来のDNAに対する抑制制御分子として、DNaseIIとTREX1が報告されている。DNaseIIは、マクロファージがアポトーシス細胞を貪食する過程において、アポトーシス細胞由来のDNA成分を分解消化する役割を担う<sup>68-70)</sup>。DNaseII欠損マクロファージ細胞では、未分解なDNAの核内への集積に伴う過剰なIFNの産生誘導を引き起こし、その個体においては重篤な炎症性反応の惹起による自己免疫性疾患症状を呈することが報告されている。興味深いことに、これらの過度な炎症性反応は、STING分子の欠損により有意に緩和されることが実験マウスで示されている<sup>71)</sup>。核内における

DNaseIIによる自己DNA分解過程に対する、アダプター分子STINGの関連機序は詳細には理解されていない。一方、エキソヌクレアーゼ活性を有するTREX1は、細胞質内におけるDNAの分解過程に関与しており、DNaseII同様に、STINGの遺伝子欠損に伴い自己免疫性疾患症状が改善されることがマウス個体において報告されている<sup>72)</sup>。TREX1に関しては、HIV-1由来の逆転写産物の分解過程にも関与することが報告されており、HIV感染に対する生体防御機構にも寄与する<sup>73)</sup>。すなわち、これらの分子群は、STING依存的なIFNシグナルに対するネガティブレギュレーターとして機能していることが示唆される(図3)。DNaseIIとTREX1に対するcGASの相互作用は報告されていないが、STING同様の表現系を呈するものと予測される。

### STING 依存的なシグナル伝達の制御機構

自然免疫の誘導機序に関わる分子の多くは、ユビキチン修飾やリン酸化反応などを受けることでシグナル活性が厳密に制御されている。これまでに、E3ライゲース活性を有する免疫シグナル制御分子によるSTINGのシグナル活性制御が報告されている。TRIM (Tripartite motif) サブファミリーであるTRIM56やTRIM32分子は、STINGに対するK63型のユビキチン化反応を促進し、TBK1/IRF3を介したIFNの産生誘導に貢献する<sup>74, 75)</sup>。一方で、RNF5分子は、K48型のユビキチン化反応を促進し、STINGをプロテアソーム依存的な分解経路に誘導しシグナル反応の終息に貢献する<sup>76)</sup>。TRAF (TNF-receptor associated factor) ファミリー分子群によるDNA依存的な自然免疫誘導の活性制御も報告されている。TRAF6は、DNA刺激依存的なIRF7やNF- $\kappa$ Bの活性制御に関与するが、STINGに対する直接的なユビキチン化反応の影響は報告されていない<sup>77, 78)</sup>。STINGの遺伝子配列には、TRAF2やTRAF3結合モチーフの存在が確認されているが、STING依存的なシグナル経路に対する影響は詳細には明らかにされていない<sup>33, 35)</sup>。また、STINGは、DNA刺激に伴いリン酸化修飾を受けることが報告されており、そのリン酸化部位は、主にセリン366番目(マウスでは365番目)に規定されている<sup>33, 79, 80)</sup>。STINGのセリン366番目のリン酸化には、TBK1が関与していることが報告されており、DNA刺激依存的なIFNの発現誘導の制御に重要な役割を担う<sup>79)</sup>。近年、TBK1以外のSTINGのリン酸化反応に関与するキナーゼ分子が報告されている。オートファジー関連分子であるULK1 (UNC-51-like kinase) は、HSV感染やDNA刺激により、自身の脱リン酸化反応に伴う活性化により、STINGのセリン366番目のリン酸化を促進させる<sup>80)</sup>。ULK1のRNAiによる遺伝子発現抑制は、DNA刺激によるIFN応答を促進させることから、ULK1によるSTINGのリン酸化を介したシグナル抑制機構が示

唆される。興味深いことに、ULK1の脱リン酸化反応は、cGAMPの惹起によりSTING非依存的に誘導される。このことは、ULK1の活性制御に関与するSTING以外のcGAMP感知センサーの存在を示唆させるものである(図4)。

### RNA ウイルス感染に対する cGAS/STING 経路の関与

STINGは、DNAウイルス感染のみならずRNAウイルス感染に対する抗ウイルス活性制御にも重要な役割を担うことが知られているが、その分子機序には不明な点が多く残されている。STING遺伝子欠損マウスは、水疱性口内炎ウイルス(VSV: Vesicular stomatitis virus)の感染に対する抵抗性が減弱しており、IFNの産生低下が種々の細胞より確認されている<sup>32)</sup>。STINGのRNAセンサーのシグナル経路に対する関与は明らかにされていないが、STINGとRIG-Iの分子間相互作用の報告が成されている<sup>32)</sup>。cGAS遺伝子欠損マウスに関しては、HSV-1感染に対する自然免疫応答の顕著な低下が認められるが、パラミクソウイルス(センダイウイルスやニューカッスル伝染病ウイルスなど)の感染に対しては正常なIFNの産生誘導を示す<sup>66)</sup>。一方で、cGAS(C6orf150としても知られる)がDNAセンサーとしてのコンセンサスを得る以前に、様々なRNAウイルス感染に対する抵抗性因子として機能することが先行して報告されていた経緯がある。Schogginsらは、IFNの誘導に伴い発現されるISGに対する網羅的なRNAiの解析より、cGASが、黄熱病、ウエストナイル、チクングニヤ、ベネズエラ馬脳炎などのフラビウイルス感染に対する抗ウイルス活性因子として機能することを報告した<sup>81)</sup>。加えてこの報告からは、HIV-1やC型肝炎ウイルス(HCV: Hepatitis C virus)の感染に対する抗ウイルス活性の影響は観察されていない。RNAウイルス感染に対するcGAS/STING経路による自然免疫誘導は、DNAウイルス感染の場合よりも複雑に制御されている可能性が示唆される。

### おわりと今後の展望

ここ十数年程において、自然免疫の研究は、TLRの発見から細胞内RNAセンサーの同定を経て、ついに細胞内DNAセンサーの同定に至ることとなった。TLRやRNAセンサーであるRIG-I/MDA5の同定過程に対し、DNAセンサーにおいては種々の候補分子が報告されたことで混迷を極めた背景があった。この理由は明確にはされていないが、細胞種特異的な反応経路の存在に加え、IFNの産生誘導経路以外の細胞内DNA認識に対する生物学的意義(例えば小胞体ストレス、プログラミング細胞死、オートファジー制御など)が考察される<sup>41, 82-84)</sup>。cGAS-STING経路は、アポトーシス細胞に由来する自己DNA成分にも反応し過剰な炎症性反応を惹起する要因にも成り得ることから、

cGAS-STING 依存的なシグナル伝達経路の制御は自己免疫性疾患の改善に寄与することが期待される。また、DNA の刺激や DNA ウイルス感染に伴い cGAS より産生される cGAMP は、免疫アジュバントとしての有効性も確認されており、今後、新規アジュバントとして有用であると思われる<sup>66)</sup>。

本トピックスで言及された核酸成分に対する自然免疫センサーの他に、尿酸結晶、ATP、やコレステロール結晶などの内源性因子や免疫アジュバントである水酸化アルミニウムに反応し、炎症性の IL-1 $\beta$  の産生促進に関与するインフラマソームと称される自然免疫経路が存在する<sup>85)</sup>。NALP サブファミリーに属する NALP3 は、これらの代謝物の反応後、アダプター ASC の Caspase-1 の活性化を介した IL-1 $\beta$  の産生に寄与する。興味深いことに、バクテリア感染により産生されるセカンドメッセンジャー分子が、NALP3-ASC 依存的に IL-1 $\beta$  を産生することが報告されている<sup>86)</sup>。STING はインフラマソームの反応経路には関与せず、また、NALP3 がセカンドメッセンジャー分子の直接的な受容体である報告は成されていない。上述の新規セカンドメッセンジャー分子である cGAMP による ULK1 の活性制御機構に加え、これらの事実は STING 以外のセカンドメッセンジャー受容体分子とそのシグナル制御機構の存在を示唆するものである。今後、これらの分子機構の解明が次の自然免疫分野のブレークスルーにつながるものと思われる。

## 謝 辞

本トピックスへの執筆の機会を頂きました。雑誌ウイルス編集委員長の松浦善治先生（大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野）に感謝いたします。米国 University of Miami School of Medicine Glen N Barber 博士には、STING による DNA の認識機構の研究の機会を与えて頂き、この場をかりて深く感謝いたします。

## 参考文献

- 1) Kawai T, Akira S : TLR signaling. *Cell Death Differ.* 13:816-825, 2006.
- 2) Akira S : TLR signaling. *Curr Top Microbiol Immunol.* 311:1-16, 2006.
- 3) Kawai T, Akira S : TLR signaling. *Semin Immunol.* 19:24-32, 2007.
- 4) 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.* 5:730-737, 2004.
- 5) 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.* 175:2851-2858, 2005.
- 6) 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.* 441:101-105, 2006.
- 7) Desmet CJ, Ishii KJ : Nucleic acid sensing at the interface between innate and adaptive immunity in vaccination. *Nat Rev Immunol.* 12:479-91, 2012.
- 8) Paludan SR, Bowie AG : Immune sensing of DNA. *Immunity.* 38:870-880, 2013.
- 9) Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S : A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature.* 408:740-745, 2000.
- 10) Kadowaki N, Antonenko S, Liu YJ : Distinct CpG DNA and polyinosinic-polycytidylic acid double-stranded RNA, respectively, stimulate CD11c- type 2 dendritic cell precursors and CD11c+ dendritic cells to produce type I IFN. *J Immunol.* 166:2291-2295, 2001.
- 11) Hemmi H, Kaisho T, Takeda K, Akira S : The roles of Toll-like receptor 9, MyD88, and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in the effects of two distinct CpG DNAs on dendritic cell subsets. *J Immunol.* 170:3059-3064, 2003.
- 12) Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, Akira S, Reis e Sousa C : Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science.* 303:1529-1531, 2004.
- 13) Lund JM, Alexopoulou L, Sato A, Karow M, Adams NC, Gale NW, Iwasaki A, Flavell RA : Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101:5598-5603, 2004.
- 14) 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.
- 15) Stetson DB, Medzhitov R : Recognition of cytosolic DNA activates an IRF3-dependent innate immune response. *Immunity.* 24:93-103, 2006.
- 16) Delale T, Paquin A, Asselin-Paturel C, Dalod M, Brizard G, Bates EE, Kastner P, Chan S, Akira S, Vicari A, Biron CA, Trinchieri G, Briere F : MyD88-dependent and -independent murine cytomegalovirus sensing for IFN-alpha release and initiation of immune responses in vivo. *J Immunol.* 175:6723-6732, 2005.
- 17) Hochrein H, Schlatter B, O'Keeffe M, Wagner C, Schmitz F, Schiemann M, Bauer S, Suter M, Wagner H : Herpes simplex virus type-1 induces IFN-alpha production via Toll-like receptor 9-dependent and -independent pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101:11416-11421, 2004.
- 18) Zhu J, Huang X, Yang Y : Innate immune response to adenoviral vectors is mediated by both Toll-like receptor-dependent and -independent pathways. *J Virol.* 81:3170-3180, 2007.



- 19) Waibler Z, Anzaghe M, Ludwig H, Akira S, Weiss S, Sutter G, Kalinke U : Modified vaccinia virus Ankara induces Toll-like receptor-independent type I interferon responses. *J Virol.* 81:12102-12110, 2007.
- 20) Nociari M, Ocheretina O, Schoggins JW, Falck-Pedersen E : Sensing infection by adenovirus: Toll-like receptor-independent viral DNA recognition signals activation of the interferon regulatory factor 3 master regulator. *J Virol.* 81:4145-4157, 2007.
- 21) Abe T, Hemmi H, Miyamoto H, Moriishi K, Tamura S, Takaku H, Akira S, Matsuura Y : Involvement of the Toll-like receptor 9 signaling pathway in the induction of innate immunity by baculovirus. *J Virol.* 79:2847-2858, 2005.
- 22) Abe T, Kaname Y, Wen X, Tani H, Moriishi K, Uematsu S, Takeuchi O, Ishii KJ, Kawai T, Akira S, Matsuura Y : Baculovirus induces type I interferon production through toll-like receptor-dependent and -independent pathways in a cell-type-specific manner. *J Virol.* 83:7629-7640, 2009.
- 23) 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.* 448:501-505, 2007.
- 24) Ishii KJ, Kawagoe T, Koyama S, Matsui K, Kumar H, Kawai T, Uematsu S, Takeuchi O, Takeshita F, Coban C, Akira S : TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. *Nature.* 451:725-729, 2008.
- 25) Wang Z, Choi MK, Ban T, Yanai H, Negishi H, Lu Y, Tamura T, Takaoka A, Nishikura K, Taniguchi T : Regulation of innate immune responses by DAI (DLM-1/ZBP1) and other DNA-sensing molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105:5477-5482, 2008.
- 26) Unterholzner L, Keating SE, Baran M, Horan KA, Jensen SB, Sharma S, Sirois CM, Jin T, Latz E, Xiao TS, Fitzgerald KA, Paludan SR, Bowie AG : IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. *Nat Immunol.* 11:997-1004, 2010.
- 27) Kerur N, Veettil MV, Sharma-Walia N, Bottero V, Sadagopan S, Otageri P, Chandran B : IFI16 acts as a nuclear pathogen sensor to induce the inflammasome in response to Kaposi Sarcoma-associated herpesvirus infection. *Cell Host Microbe.* 9:363-375, 2011.
- 28) Gariano GR, Dell'Oste V, Bronzini M, Gatti D, Luganini A, De Andrea M, Gribaudo G, Gariglio M, Landolfo S : The intracellular DNA sensor IFI16 gene acts as restriction factor for human cytomegalovirus replication. *PLoS Pathog.* 8:e1002498, 2012.
- 29) Dell'oste V, Gatti D, Gugliesi F, De Andrea M, Bawadekar M, Cigno IL, Biolatti M, Vallino M, Marschall M, Gariglio M, Landolfo S : Innate nuclear sensor IFI16 translocates into the cytoplasm during early stage of in vitro HCMV infection and is entrapped in the egressing virions during late stage. *J Virol*, 2014, published ahead of print
- 30) Zhang Z, Yuan B, Bao M, Lu N, Kim T, Liu YJ : The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells. *Nat Immunol.* 12:959-965, 2011.
- 31) Kondo T, Kobayashi J, Saitoh T, Maruyama K, Ishii KJ, Barber GN, Komatsu K, Akira S, Kawai T : DNA damage sensor MRE11 recognizes cytosolic double-stranded DNA and induces type I interferon by regulating STING trafficking. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110:2969-2974, 2013.
- 32) Ishikawa H, Barber GN : STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature.* 455:674-678, 2008.
- 33) Zhong B, Yang Y, Li S, Wang YY, Li Y, Diao F, Lei C, He X, Zhang L, Tien P, Shu HB : The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity.* 29:538-550, 2008.
- 34) Sun W, Li Y, Chen L, Chen H, You F, Zhou X, Zhou Y, Zhai Z, Chen D, Jiang Z : ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106:8653-8658, 2009.
- 35) Jin L, Waterman PM, Jonscher KR, Short CM, Reisdorph NA, Cambier JC : MPYS, a novel membrane tetraspanner, is associated with major histocompatibility complex class II and mediates transduction of apoptotic signals. *Mol Cell Biol.* 28:5014-5026, 2008.
- 36) Barber GN : STING-dependent cytosolic DNA sensing pathways. *Trends Immunol.* 35:88-93, 2014.
- 37) Barber GN : Innate immune DNA sensing pathways: STING, AIMII and the regulation of interferon production and inflammatory responses. *Curr Opin Immunol.* 23:10-20, 2011.
- 38) Ishikawa H, Ma Z, Barber GN : STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature.* 461:788-792, 2009.
- 39) Saitoh T, Fujita N, Hayashi T, Takahara K, Satoh T, Lee H, Matsunaga K, Kageyama S, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Kawai T, Ishii K, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S : Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106:20842-20846, 2009.
- 40) Abe T, Harashima A, Xia T, Konno H, Konno K, Morales A, Ahn J, Gutman D, Barber GN : STING recognition of cytoplasmic DNA instigates cellular defense. *Mol Cell.* 50:5-15, 2013.
- 41) Sze A, Belgnaoui SM, Olganier D, Lin R, Hiscott J, van Grevenynghe J : Host restriction factor SAMHD1 limits human T cell leukemia virus type 1 infection of monocytes via STING-mediated apoptosis. *Cell Host Microbe.* 14:422-434, 2013.
- 42) Sharma S, DeOliveira RB, Kalantari P, Parroche P, Goutagny N, Jiang Z, Chan J, Bartholomeu DC, Lauw F, Hall JP, Barber GN, Gazzinelli RT, Fitzgerald KA, Golenbock D T : Innate immune recognition of an AT-rich stem-loop DNA motif in the Plasmodium falciparum genome. *Immunity.* 35:194-207, 2011.
- 43) Unterholzner L : The interferon response to intracellular DNA: why so many receptors? *Immunobiology.* 218:1312-1321, 2013.

- 44) McWhirter SM, Barbalat R, Monroe KM, Fontana MF, Hyodo M, Joncker NT, Ishii KJ, Akira S, Colonna M, Chen ZJ, Fitzgerald KA, Hayakawa Y, Vance RE : A host type I interferon response is induced by cytosolic sensing of the bacterial second messenger cyclic-di-GMP. *J Exp Med*. 206:1899-1911, 2009.
- 45) Burdette DL, Monroe KM, Sotelo-Troha K, Iwig JS, Eckert B, Hyodo M, Hayakawa Y, Vance RE : STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP. *Nature*. 478:515-518, 2011.
- 46) Chin KH, Tu ZL, Su YC, Yu YJ, Chen HC, Lo YC, Chen CP, Barber GN, Chuah ML, Liang ZX, Chou SH : Novel c-di-GMP recognition modes of the mouse innate immune adaptor protein STING. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 69:352-366, 2013.
- 47) Huang YH, Liu XY, Du XX, Jiang ZF, Su XD : The structural basis for the sensing and binding of cyclic di-GMP by STING. *Nat Struct Mol Biol*. 19:728-730, 2012.
- 48) Ouyang S, Song X, Wang Y, Ru H, Shaw N, Jiang Y, Niu F, Zhu Y, Qiu W, Parvatiyar K, Li Y, Zhang R, Cheng G, Liu ZJ : Structural analysis of the STING adaptor protein reveals a hydrophobic dimer interface and mode of cyclic di-GMP binding. *Immunity*. 36:1073-1086, 2012.
- 49) Yin Q, Tian Y, Kabaleeswaran V, Jiang X, Tu D, Eck MJ, Chen ZJ, Wu H : Cyclic di-GMP sensing via the innate immune signaling protein STING. *Mol Cell*. 46:735-745, 2012.
- 50) Shu C, Yi G, Watts T, Kao CC, Li P : Structure of STING bound to cyclic di-GMP reveals the mechanism of cyclic dinucleotide recognition by the immune system. *Nat Struct Mol Biol*. 19:722-724, 2012.
- 51) Shang G, Zhu D, Li N, Zhang J, Zhu C, Lu D, Liu C, Yu Q, Zhao Y, Xu S, Gu L : Crystal structures of STING protein reveal basis for recognition of cyclic di-GMP. *Nat Struct Mol Biol*. 19:725-727, 2012.
- 52) Shaw N, Ouyang S, Liu ZJ : Binding of bacterial secondary messenger molecule c di-GMP is a STING operation. *Protein Cell*. 4:117-129, 2013.
- 53) Parvatiyar K, Zhang Z, Teles RM, Ouyang S, Jiang Y, Iyer S S, Zaver SA, Schenk M, Zeng S, Zhong W, Liu ZJ, Modlin RL, Liu YJ, Cheng G : The helicase DDX41 recognizes the bacterial secondary messengers cyclic di-GMP and cyclic di-AMP to activate a type I interferon immune response. *Nat Immunol*. 13:1155-1161, 2012.
- 54) Wu J, Sun L, Chen X, Du F, Shi H, Chen C, Chen ZJ : Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science*. 339:826-830, 2013.
- 55) Zhang X, Shi H, Wu J, Sun L, Chen C, Chen ZJ : Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING. *Mol Cell*. 51:226-235, 2013.
- 56) Gao P, Ascano M, Zillinger T, Wang W, Dai P, Serganov AA, Gaffney BL, Shuman S, Jones RA, Deng L, Hartmann G, Barchet W, Tuschl T, Patel DJ : Structure-function analysis of STING activation by c[G(2',5')pA(3',5')p] and targeting by antiviral DMXAA. *Cell*. 154:748-762, 2013.
- 57) Ablasser A, Goldeck M, Cavlar T, Deimling T, Witte G, Rohl I, Hopfner KP, Ludwig J, Hornung V : cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING. *Nature*. 498:380-384, 2013.
- 58) Diner EJ, Burdette DL, Wilson SC, Monroe KM, Kellenberger CA, Hyodo M, Hayakawa Y, Hammond MC, Vance RE : The innate immune DNA sensor cGAS produces a noncanonical cyclic dinucleotide that activates human STING. *Cell Rep*. 3:1355-1361, 2013.
- 59) Sun L, Wu J, Du F, Chen X, Chen ZJ : Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science*. 339:786-791, 2013.
- 60) Kranzusch PJ, Lee AS, Berger JM, Doudna JA : Structure of human cGAS reveals a conserved family of second-messenger enzymes in innate immunity. *Cell Rep*. 3:1362-1368, 2013.
- 61) Li X, Shu C, Yi G, Chaton CT, Shelton CL, Diao J, Zuo X, Kao CC, Herr AB, Li P : Cyclic GMP-AMP synthase is activated by double-stranded DNA-induced oligomerization. *Immunity*. 39:1019-1031, 2013.
- 62) Zhang X, Wu J, Du F, Xu H, Sun L, Chen Z, Brautigam CA, Chen ZJ : The cytosolic DNA sensor cGAS forms an oligomeric complex with DNA and undergoes switch-like conformational changes in the activation loop. *Cell Rep*. 6:421-430, 2014.
- 63) Civril F, Deimling T, de Oliveira Mann CC, Ablasser A, Moldt M, Witte G, Hornung V, Hopfner KP : Structural mechanism of cytosolic DNA sensing by cGAS. *Nature*. 498:332-337, 2013.
- 64) Gao D, Wu J, Wu YT, Du F, Aroh C, Yan N, Sun L, Chen ZJ : Cyclic GMP-AMP synthase is an innate immune sensor of HIV and other retroviruses. *Science*. 341:903-906, 2013.
- 65) Lahaye X, Satoh T, Gentili M, Cerboni S, Conrad C, Hurbain I, El Marjou A, Lacabaratz C, Lelievre JD, Manel N : The capsids of HIV-1 and HIV-2 determine immune detection of the viral cDNA by the innate sensor cGAS in dendritic cells. *Immunity*. 39:1132-1142, 2013.
- 66) Li XD, Wu J, Gao D, Wang H, Sun L, Chen ZJ : Pivotal roles of cGAS-cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects. *Science*. 341:1390-1394, 2013.
- 67) Crow MK : Type I interferon in systemic lupus erythematosus. *Curr Top Microbiol Immunol*. 316:359-386, 2007.
- 68) Kawane K, Fukuyama H, Kondoh G, Takeda J, Ohsawa Y, Uchiyama Y, Nagata S : Requirement of DNase II for definitive erythropoiesis in the mouse fetal liver. *Science*. 292:1546-1549, 2001.
- 69) 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.
- 70) Kawane K, Ohtani M, Miwa K, Kizawa T, Kanbara Y, Yoshioka Y, Yoshikawa H, Nagata S : Chronic polyarthritis caused by mammalian DNA that escapes from

- degradation in macrophages. *Nature*. 443:998-1002, 2006.
- 71) Ahn J, Gutman D, Saijo S, Barber GN : STING manifests self DNA-dependent inflammatory disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 109:19386-19391, 2012.
  - 72) Gall A, Treuting P, Elkon KB, Loo YM, Gale, M Jr, Barber G N, Stetson DB : Autoimmunity initiates in non-hematopoietic cells and progresses via lymphocytes in an interferon-dependent autoimmune disease. *Immunity*. 36:120-131, 2012.
  - 73) Yan N, Regalado-Magdos AD, Stiggelbout B, Lee-Kirsch MA, Lieberman J : The cytosolic exonuclease TREX1 inhibits the innate immune response to human immunodeficiency virus type 1. *Nat Immunol*. 11:1005-1013, 2010.
  - 74) Tsuchida T, Zou J, Saitoh T, Kumar H, Abe T, Matsuuray Y, Kawai T, Akira S : The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA. *Immunity*. 33:765-776, 2010.
  - 75) Zhang J, Hu MM, Wang YY, Shu HB : TRIM32 protein modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting MITA/STING protein for K63-linked ubiquitination. *J Biol Chem*. 287:28646-28655, 2012.
  - 76) Zhong B, Zhang L, Lei C, Li Y, Mao AP, Yang Y, Wang YY, Zhang XL, Shu HB : The ubiquitin ligase RNF5 regulates antiviral responses by mediating degradation of the adaptor protein MITA. *Immunity*. 30:397-407, 2009.
  - 77) Konno H, Yamamoto T, Yamazaki K, Gohda J, Akiyama T, Semba K, Goto H, Kato A, Yujiri T, Imai T, Kawaguchi Y, Su B, Takeuchi O, Akira S, Tsunetsugu-Yokota Y, Inoue J : TRAF6 establishes innate immune responses by activating NF-kappaB and IRF7 upon sensing cytosolic viral RNA and DNA. *PLoS One*. 4:e5674, 2009.
  - 78) Abe T, Barber GN. Cytosolic DNA-mediated, STING-dependent pro-inflammatory gene induction necessitates canonical NF-kappaB activation through TBK1. *J Virol*. 88:5328-5341, 2014.
  - 79) Tanaka Y, Chen ZJ : STING specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the cytosolic DNA signaling pathway. *Sci Signal*. 5:ra20, 2012.
  - 80) Konno H, Konno K, Barber GN : Cyclic dinucleotides trigger ULK1 (ATG1) phosphorylation of STING to prevent sustained innate immune signaling. *Cell*. 155:688-698, 2013.
  - 81) Schoggins JW, Wilson SJ, Panis M, Murphy MY, Jones CT, Bieniasz P, Rice CM : A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature*. 472:481-485, 2011.
  - 82) Petrasek J, Iracheta-Vellve A, Csak T, Satishchandran A, Kodys K, Kurt-Jones EA, Fitzgerald KA, Szabo G : STING-IRF3 pathway links endoplasmic reticulum stress with hepatocyte apoptosis in early alcoholic liver disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110:16544-16549, 2013.
  - 83) Liu YP, Zeng L, Tian A, Bomkamp A, Rivera D, Gutman D, Barber GN, Olson JK, Smith JA : Endoplasmic reticulum stress regulates the innate immunity critical transcription factor IRF3. *J Immunol*. 189:4630-4639, 2012.
  - 84) Liang Q, Seo GJ, Choi YJ, Kwak MJ, Ge J, Rodgers MA, Shi M, Leslie BJ, Hopfner KP, Ha T, Oh BH, Jung JU : Crosstalk between the cGAS DNA sensor and Beclin-1 autophagy protein shapes innate antimicrobial immune responses. *Cell Host Microbe*. 15:228-238, 2014.
  - 85) Mariathasan S, Monack DM : Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 7:31-40, 2007.
  - 86) Abdul-Sater AA, Tattoli I, Jin L, Grajkowski A, Levi A, Koller BH, Allen IC, Beaucage SL, Fitzgerald KA, Ting JP, Cambier JC, Girardin SE, Schindler C : Cyclic-di-GMP and cyclic-di-AMP activate the NLRP3 inflammasome. *EMBO Rep*. 14:900-906, 2013.

## **Innate immune DNA sensing pathways**

**Takayuki ABE, Ph.D**

Department of System biology, Microbiology & Immunology,  
Columbia University, New York, NY, 10032 USA

How the cells triggers the induction of innate immune genes in response to nucleic acids derived from microbes, such as DNA viruses, intracellular bacteria, and parasites, or self DNA, has not been elucidated fully. We have previously shown that an endoplasmic reticulum (ER)-associated multiple transmembrane protein, so-called STING (stimulator of interferon genes), functions as an essential molecules for triggering DNA-mediated gene induction. STING may directly associate with stimulatory ligands, which include DNA, as well as with cyclic dinucleotides (CDNs), which are secreted by intracellular bacteria. After DNA or CDN stimulation, STING traffics with kinase TBK1 in an autophagic signaling complex, from ER to perinuclear endosomal compartments harboring IRF3 and NF- $\kappa$ B. STING may involve in autoinflammatory disease manifested by aberrant self-DNA. Understanding of STING function may conceivably lead to the development of potent adjuvants for vaccine development or conversely therapeutics that could control inflammation aggravated disease.