第 39 回日本小児感染症学会特別講演 2

核酸による自然免疫制御とワクチン開発

小山正平** 審良静男** 石井　健*,**

はじめに

生命は，外来生物，食べ物，不要になった代謝産物などに日々曝露されるなかで，極めて巧妙な手段を用いて必要な自己および不要な非自己を識別する機構を発達させてきた．その代表的な生命システムが免疫と呼ばれる機構である．近年まで，核酸（DNA，RNA）は生体を構築する最も基礎となる物質であり，生体内のあらゆる場所に存在しているため，免疫システムに認識されることはないと思われてきた．ところが核酸でさえも，生体内，もしくは細胞内で異常な状態として存在する場合，例えば病原微生物のように外因性に侵入してきた際や，傷害された宿主細胞から内因性に生じた際は，それらを排除するために宿主の免疫応答が誘導されることが明らかになってきた．

近年の自然免疫研究の勃興とともに，核酸がその配列・修飾・構造によって免疫活性をもち，それらは Toll 様受容体（Toll-like receptor：TLR）や RIG 様受容体（RIG-like receptor：RLR）といった自然免疫受容体によって認識されることが明らかになりつつある．また，これらの認識に続いてそれぞれ特異的なシグナル伝達経路を介して自然免疫応答が誘導され（**図 1**），その後の獲得免疫反応をも精密に制御していることが明らかになってきた[1,2]．後述するが，核酸による自然免疫制御のメカニズムを解明することは，核酸を用いた有効な免疫療法の開発に必須であるだけでなく，アレルギーや自己免疫疾患の発症機序の解明にも有用であることも示唆されつつある．本稿では，最新の知見を取り入れつつ，われわれが取り組んできた研究成果を例にあげながら，DNA・RNA の自然免疫認識機構および核酸のワクチンアジュバントとしての作用機序を示すとともに，今後のワクチン開発の戦略について考えていく．なお，本稿は 2007 年 11 月 10 日の小児感染症学会で発表した内容を改編したものである．

本稿では以下の略語を用いている．

TLR：Toll-like receptor
RLR：RIG-like receptor
MyD88：Myeloid differentiation primary response gene 88
TRIF：TIR domain-containing adaptor inducing interferon-β
TIRAP/MAL：TIR domain-containing adaptor protein/MyD88-adoptor like
TRAM：Trif-related adaptor molecule
IRAK：IL-1R-associated kinase
TRAF：TNF receptor associated factor
TAK1：Transforming growth factor-β-activated kinase 1
IRF：Interferon regulatory factor
NFκB：Nuclear factor kappa B
TBK1：TANK-binding kinase 1
IKK：IκB kinase
IFN：Interferon

* 大阪大学微生物病研究所難治感染症研究センター　Ken Ishii
** 同 免疫学フロンティア研究センター　Shohei Oyama, Shizuo Shinra
〔〒565-0871 吹田市山田丘 3-1〕

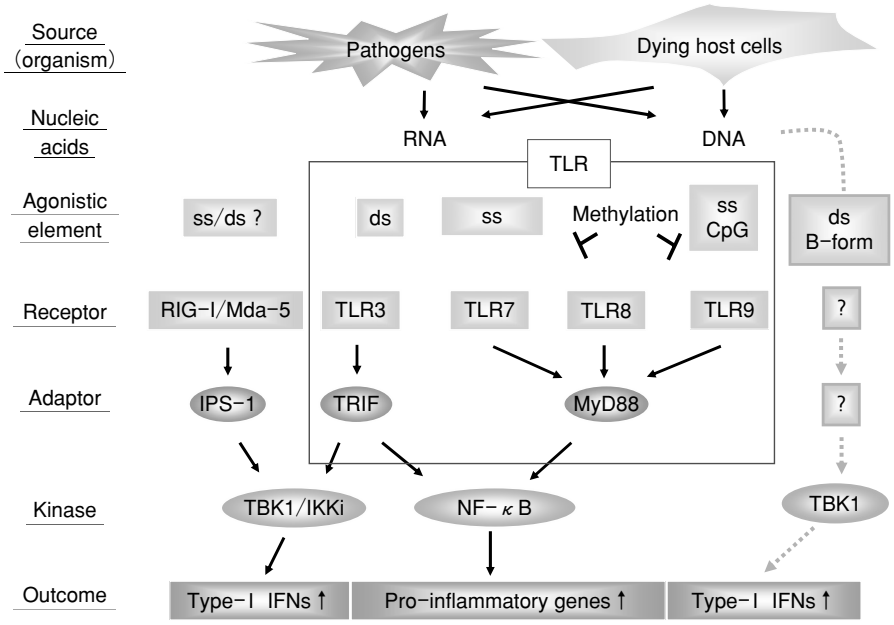

図 1　自然免疫システムにおける核酸認識機構（文献 16）より引用）

cDC：conventional dendritic cell
pDC：plasmacytoid dendritic cell
CTL：cytotoxic T lymphocyte
RIG-I ：retinoic acid-inducible gene I
MDA5：melanoma differentiation-associated gene 5
IPS-1：IFN β-promoter stimulator 1
RIP1：receptor interacting protein 1
CARD：caspase activation and recruitment domain
OVA：Ovalbumin
Alum：aluminium hydroxide

Ⅰ．DNA の自然免疫認識機構

通常，真核生物の DNA は核やミトコンドリア内のスペースに厳重に保管されている（自己）が，微生物が感染したり宿主細胞が傷害されると，そこから放出された DNA（非自己）に対して自然免疫応答が誘導されることが知られている[3,4]．DNA を認識する自然免疫受容体として TLR9 は現在特定されている唯一の受容体であるが，最近になり TLR9 を介さない経路（その受容体は依然同定されていない）によっても DNA が認識されることが明らかになった（**図 2**）．ここでは DNA の自然免疫認識機構について，TLR9 による CpG-DNA の認識機構と，TLR9 非依存性の二本鎖 DNA の認識機構，そしてその生理的意義に関して例をあげて概説する．

1．TLR9 による CpG-DNA の認識機構

細菌やウイルスの DNA には，哺乳類の DNA と比べると約 20 倍ほど多く非メチル化 CpG 配列が存在する．この配列は CpG モチーフともいい，このモチーフをもち免疫活性を有する DNA を総じて CpG-DNA ともいう．その CpG-DNA に対する自然免疫応答は TLR9 を介して誘導されることが知られている[5]．CpG-DNA は免疫細胞にエンドサイトーシスによって取り込まれると，エンドソーム内で TLR9 と結合する．CpG を認識した TLR9 は，細胞質内の TIR ドメインを介してアダプター分子 MyD88 と会合し，そのシグナルは IRAK ファミリー，TRAF6，TAK1 の活性と連鎖し炎症性サイトカイン遺伝子の発現を促すほか，IRF7 を介した I 型 IFN 反応を誘導する（図 2）．免疫活性をもった CpG DNA にはその配列，構造，免疫活性の違いから，少なくとも 3 種類（D/A 型 CpG，K/B 型 CpG，C 型 CpG）のタイプに分けられる．D/A 型 CpG は，主に形質細胞様樹状細胞（plasmacytoid DC：pDC）からの IFNα の産生を誘導する

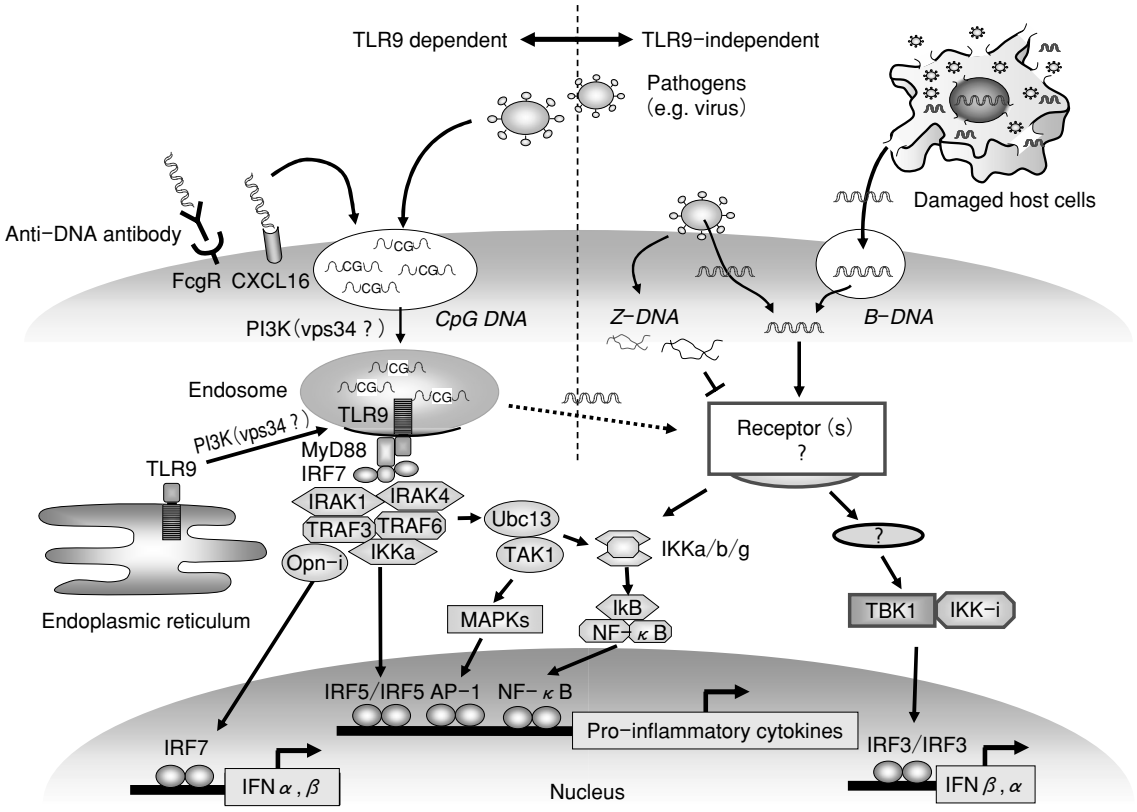

図 2　DNA の自然免疫認識機構（文献 4）より引用）

のに対し，K/B 型 CpG は主に B 細胞の活性化を誘導する．C 型 CpG は両方の性質をもっているが活性はやや弱い．いずれの型の CpG も TLR9 によって認識される[6]．

2．TLR9 非依存性経路と ds B−form DNA 刺激

TLR9 による DNA の塩基配列やメチル化に特異的な DNA の認識機構とは別に，細菌，ウイルス，哺乳類由来の二本鎖 DNA（dsDNA）が認識される自然免疫機構が存在することが，最近の研究により明らかにされてきた[4]．特に DNA を強制的に細胞内に導入する方法，例えばエレクトロポレーションやリポソームを用いて DNA をトランスフェクションすると，その DNA が一本鎖ではなく二本鎖のときのみ免疫関連遺伝子が誘導されることが知られていた．二本鎖の DNA 構造には，らせんが右巻きの A 型と B 型，左巻きの Z 型が存在するが，なかでも B 型（B−form DNA）が生体内に最も多く存在する．この点に注目してわれわれが検討した結果，自己，非自己という免疫学的な考え方からすると意外ではあったが，これらの DNA のなかで最も一般的な形である B 型 DNA が最も強く自然免疫活性をもち，TLR 非依存的経路を介して I 型 IFN 反応が強く誘導されることが明らかになった[7]．dsDNA を認識する受容体やアダプター分子は依然同定されていないが，その下流のシグナルとして TBK1，IRF3 を介して I 型 IFN や炎症性サイトカインを産生させることがわかっている[4,7]（図 2）．これらの働きは感染症，外傷などにより放出される DNA に対する宿主免疫反応や，DNA に対する，もしくは DNA をアジュバントとして発症する自己免疫疾患（全身性ループス，リウマチ性関節炎）の病態にかかわることも示唆されている．

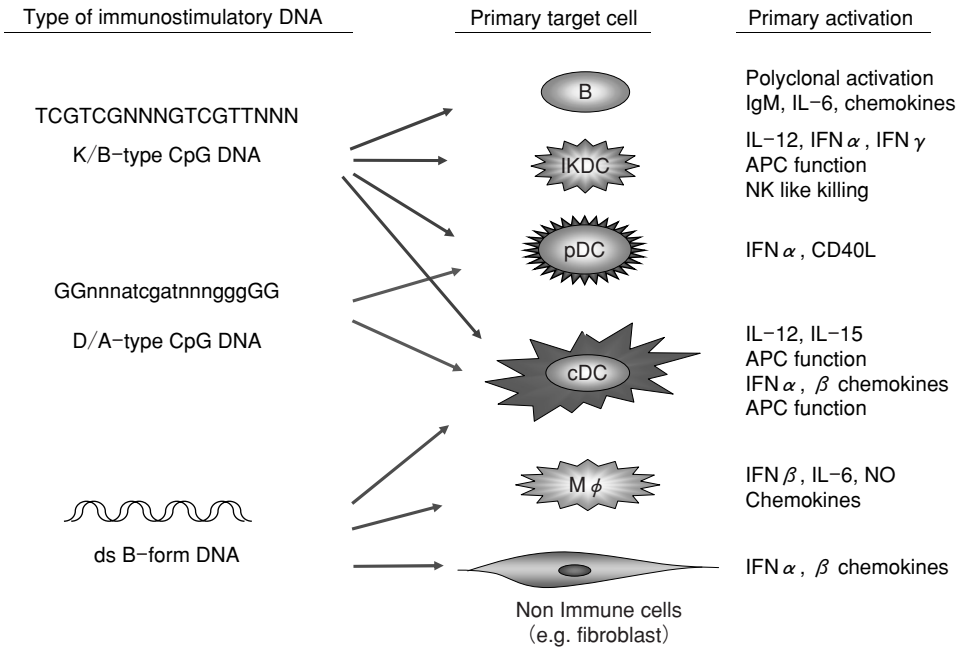

図 3　免疫原性 DNA と自然免疫応答（文献 4）より引用）

II．DNA のアジュバント作用機序

DNA が樹状細胞（DC），マクロファージなどの免疫細胞の自然免疫機構によって認識されると，I 型 IFN やさまざまな炎症性サイトカイン，ケモカインが分泌され，B 細胞，T 細胞による獲得免疫が誘導される（**図 3**）．昨今，DNA を基盤，つまりベクターとして使用するワクチンや遺伝子治療が開発されつつあるが，安全で効率的な獲得免疫の誘導は，ワクチンを含めた免疫療法の開発のために最も本質的な課題であり，それを避けることは遺伝子治療にとっても重要な懸案とされている．ここでは，DNA による TLR 依存的経路および非依存的経路を介する獲得免疫の誘導について，それぞれ CpG-DNA および DNA ワクチンの場合を例に説明し，DNA のワクチンアジュバントとしての可能性について考える．

1．CpG DNA

先述のように CpG DNA による自然免疫反応では，TLR9 を介して I 型 IFN 反応や炎症性サイトカインの産生が誘導されるが，さらに B 細胞の増殖，DC の成熟化，natural killer 細胞の活性化なども加わり，強力な Th1 型の獲得免疫反応（IgG2a の産生，Th1 細胞による IFNγ 産生，CTL の細胞傷害活性）が惹起される（**図 4**）．つまり，何らかの抗原とともに CpG-DNA をアジュバントとして使用することで，以上のようなメカニズムから抗原単独で使用するよりもはるかに強力な Th1 型の獲得免疫が誘導できる．CpG DNA は非常に強く安全なアジュバントであるだけでなく，単独（抗原なし）での使用でも臨床応用できる可能性をもっている．詳細は本稿では省略するが，実際にワクチンアジュバント，抗アレルギー薬，抗腫瘍薬としてさまざまな臨床試験が行われ，その有効性が証明されている[8,9]．

2．DNA ワクチン

DNA を基盤としたワクチンなどの免疫療法のなかで，注目を浴びている新型のワクチンとして DNA ワクチンと呼ばれるものがある．DNA ワクチンとは，プラスミド DNA と呼ばれる細菌由来の環状 DNA に抗原を発現する遺伝子を組み込んだもので，生体に投与すると，その抗原に特異的な免疫反応を誘導する．簡便でかつコストも抑えられるため，各種感染症や，癌，アレルギー疾患な

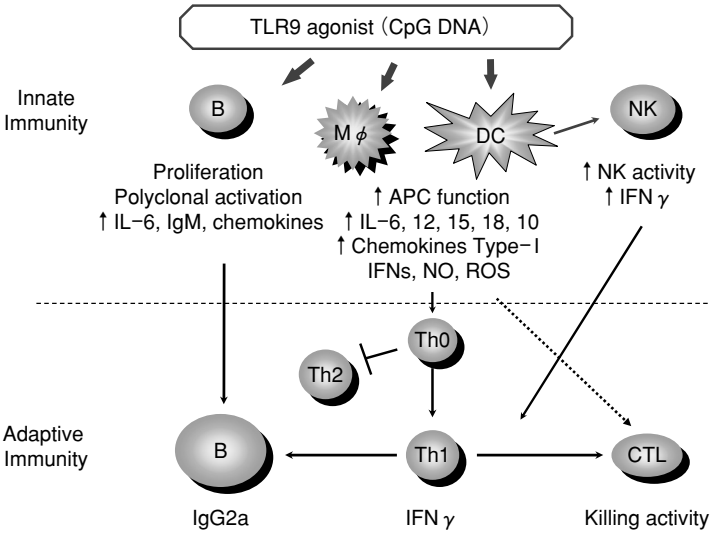

図 4　CpG DNA による獲得免疫応答（Klinman DM, Ishii KJ, et al：Drug News Perspect 13（5）：289-296, 2000 より引用）

どに対する新たなワクチンとして広く研究され，その臨床応用が世界レベルで進んでいる．ヒトではまだ認可されたものはないが，動物用ワクチンとしてウマの西ナイルウイルス感染症，養殖サケのウイルス感染症，ペット犬の悪性黒色腫（メラノーマ）に対する DNA ワクチンが北米で認可され，実際に使用されている．

しかしその一方で DNA ワクチンがなぜ効くのかという，免疫学的な作用メカニズムの解明はあまり進んでいない．これまで DNA ワクチンによる獲得免疫の誘導は，DNA ワクチンに含まれる CpG モチーフが TLR9 を刺激し，図 4 と同じメカニズムで生じるものと考えられていた．しかし，最近になりいくつかの研究グループが TLR9 を介した自然免疫反応は DNA ワクチンの効果に無関係であるということを TLR9 欠損マウスを用いた実験で示したことから，TLR に依存しないプラスミド DNA 自体のアジュバント効果の新たなメカニズムの解明が望まれていた．最近われわれは DNA ワクチン投与による獲得免疫の誘導には I 型 IFN 反応が必須であり，その反応は TLR9/Myd88 を介する経路ではなく，Ⅰ．2.「TLR9 非依存性経路と ds B-form DNA 刺激」で示したのと同様に TBK1 を介する経路で誘導されることを示すとともに，B 細胞，CD4 陽性 T 細胞の活性には骨髄由来細胞の TBK1 依存性シグナルが関与する一方，CD8 陽性 T 細胞では骨髄由来でない細胞の TBK1 依存性シグナルが重要であることを示した[10]．

実験系としてはマウスの足の筋肉に DNA ワクチンを 1 カ月おきに 2 回免疫し，その後のマウスに誘導された抗原特異的な T 細胞，B 細胞の反応を計測するという免疫学的手法を用いた．この実験系にて各種自然免疫関連遺伝子欠損マウスを用いて検討した結果，TLR9 をはじめその他の TLR や関連するシグナル分子欠損マウスでは野生型と全く同様の DNA ワクチン抗原特異的な T 細胞，B 細胞の誘導がみられた．すなわち TLR の関与はほとんどないか，あっても非常に低いことを意味している．しかし驚いたことに抗ウイルス作用があることで知られる I 型 IFN の受容体を欠損したマウスでは DNA ワクチンによる T 細胞，B 細胞の誘導が顕著に低下しており，TLR を介さない I 型 IFN 誘導の重要性が明らかになった（**図 5**）[10]．

そこでわれわれは TLR9 を介した CpG モチーフによる自然免疫反応は正常であるものの，TLR 非依存性二本鎖 B 型 DNA による自然免疫反応が著明に減弱している TBK1 欠損マウスを用いて同様の実験系にてその役割を検証した．その結果，

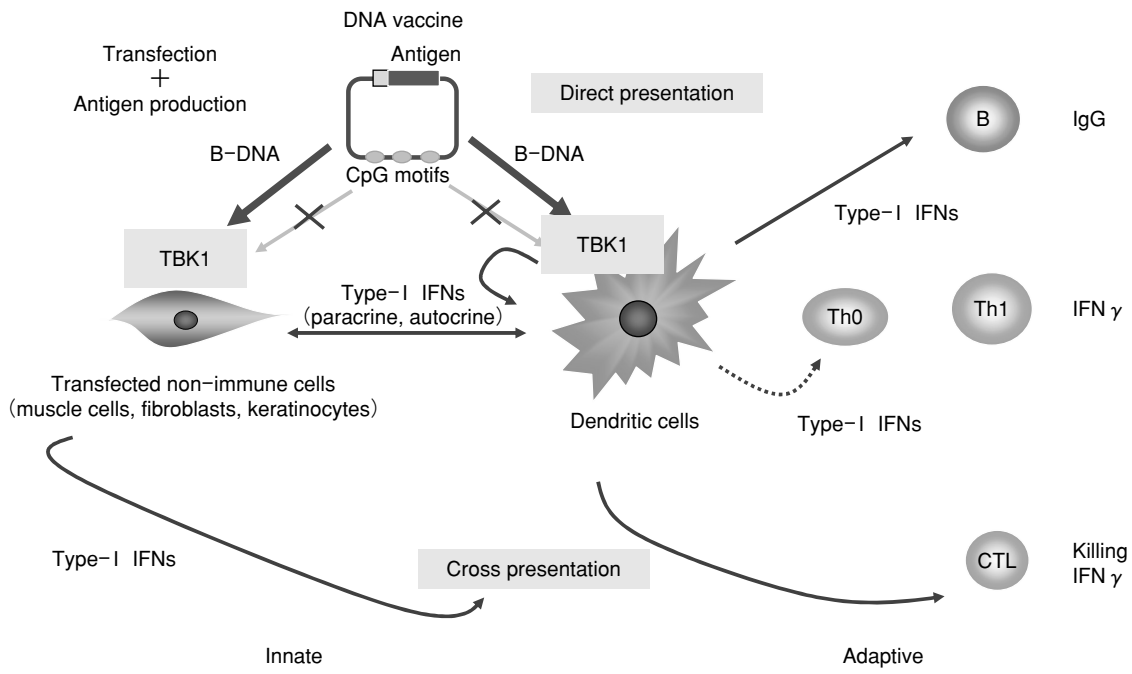

図 5　二本鎖 B-DNA による獲得免疫応答

TBK1 を欠損したマウスでは DNA ワクチンによって誘導される抗原特異的な T 細胞および B 細胞の誘導が全く起きなかった．TBK1 欠損マウスは CpG-DNA をアジュバントとして用いたワクチンの免疫では野生型と同様の抗原特異的反応が誘導されること，抗原非特異的な T 細胞，B 細胞の活性化も正常であることなどから，DNA ワクチンは TBK1 依存性の I 型 IFN を主とした自然免疫反応を活性化することにより，抗原特異的な T 細胞，B 細胞が誘導されることが示唆された（図 5）．

さらに抗原提示細胞として重要な樹状細胞だけでなく，DNA による TLR 非依存性自然免疫反応が起こり得る筋肉細胞，線維芽細胞などの DNA ワクチン免疫原性に対する寄与度を生体レベルにて検証した．実験系として，野生型，TBK1 欠損マウスに放射線照射後に野生型，TBK1 欠損マウス由来の骨髄細胞を移植したキメラマウスを作製し，これらのマウスに DNA ワクチンを免疫して上記と同様に抗原特異的な T 細胞，B 細胞の活性化を計測した．その結果，抗原特異的 B 細胞による抗体産生，CD4Th1 の誘導には免疫細胞における TBK1 依存性の自然免疫活性化が重要であることが示唆され，一方で，抗原特異的 CD8T 細胞の誘導には非免疫細胞における TBK1 依存性の自然免疫活性化が重要であることが示唆された．すなわち，DNA ワクチンによる獲得免疫（T 細胞，B 細胞）の誘導には樹状細胞などの免疫担当細胞，DNA が主に取り込まれる筋肉細胞などの非免疫細胞による，TBK1 依存性の自然免疫活性化シグナルが別々に働いて作用していることを示している（図 2）[10]．

最後に，最近 TLR に依存しない DNA のセンサー分子として発表された DAI（ZBP1 とも呼ばれる）という分子の欠損マウスを作製し，同様の DNA ワクチンの実験を行ったが，DNA ワクチンに対する IFN 産生能などの自然免疫反応，DNA ワクチンによって誘導される抗原特異的な B 細胞，T 細胞の誘導も野生型マウスと変わらないことが判明した．このことは，TLR に依存しない DNA（二本鎖 B 型 DNA，DNA ワクチン）の認識には DAI は必須ではないこと，また，未知の受容体分子が DNA を認識し，TBK1 依存性の自然免疫反応を誘導している可能性を示唆した[10]．

Ⅲ．RNA の自然免疫認識機構

RNA も DNA と同様，生体内のあらゆるところに存在し，さまざまな生命機能に役割を果たしている．

通常宿主由来の RNA（自己）に対して免疫応答は生じないが，病原微生物由来の RNA や二本鎖のような異常な構造をもった RNA（非自己）に対して免疫応答が誘導される．さまざまな種類のウイルスが生体内で複製をする際に二本鎖 RNA (dsRNA) が生じることは以前より知られており，ヒトでは通常 dsRNA が存在しないことから，これが自己と非自己の識別方法の一つと考えられている．dsRNA の認識にかかわる自然免疫の受容体として最初にみつかったのは PKR[11]であったが，その後の研究により現在では TLR3[12]，RIG-I [13]，MDA5[14] といった受容体も認識にかかわることがわかった．

dsRNA と比較し一本鎖 RNA（ssRNA）は，通常の状態でも宿主内に大量に存在していることから，自己と非自己の識別が非常に複雑となる．実際，インフルエンザウイルスなどの ssRNA ウイルスが生体に感染すると，pDC のような宿主の免疫細胞に取り込まれ，エンドソームに発現した TLR7 や TLR8 に認識され自然免疫応答が誘導されるのに対し，宿主の ssRNA は認識されないことがわかった[15]．ssRNA の自己・非自己の認識の詳細なメカニズムについては依然不明な点が多いが，これまでにメチル化の状態，特異的な配列，細胞内での局在などが関与することが報告されている[16,17]．また最近の報告によれば，エンドソーム内の TLR7, TLR8 に加え，細胞質内では RNA の 5’末端の triphosphate が RIG-I によって認識されることが示された[18]．このような ssRNA に対する自然免疫応答の詳細を解明し制御することが可能になれば，全身性ループスなどの自己免疫疾患の治療や RNA 干渉（RNAi）などを用いた遺伝治療につながると考えられる．

ここでは，dsRNA の自然免疫認識機構として TLR3 と MDA5 で認識される poly(I：C）刺激を，また ssRNA の自然免疫認識機構として TLR7 と RIG-I で認識されるインフルエンザウイルス感染を例にあげ概説する．

1．TLR3，MDA5 と poly(I：C）刺激

Poly(I：C) は合成の dsRNA で強力な自然免疫誘導作用があり，特に I 型 IFN 反応を惹起することからこの数十年間さまざまな医学の分野で IFN inducer として使用されてきた．しかしながら，近年その自然免疫の受容体が明らかとなり，TLR3 および MDA5 によって認識されることがわかった．TLR3 の刺激により TIR ドメインをもつアダプター分子である TRIF が会合し，TBK1/IKKi の活性化，IRF3 のリン酸化を経て I 型 IFN 反応が誘導されるほか，TRAF6 や RIP1 を介した NFκB の活性化を経て，炎症性サイトカインが産生される（図 1）．TLR3 や TRIF のノックアウトマウスを使った実験により，poly(I：C）の認識においては TLR3 を介さない経路の存在が示唆されていた．最近，N 末端に 2 つの CARD ドメインをもち，C 末端に DExD/H box RNA helicase domain をもつ，RIG-I および MDA5 と呼ばれる 2 つのよく類似した分子がみつかった．これらは合わせて RIG-like receptors（RLR）と呼ばれる．両者が認識するものはそれぞれ異なり poly(I：C) は MDA5 によって認識されることがわかった[19]．RIG-I および MDA5 の下流シグナルは共通しており，ミトコンドリアの外膜に存在するアダプター因子 IPS-1 を介して TBK1，IKKi，IRF3 や NFκB の活性化を経て I 型 IFN および炎症性サイトカインの産生が誘導される[20]．

2．TLR7，RIG-I とインフルエンザウイルス感染

インフルエンザウイルス感染時の自然免疫応答は，pDC では TLR7 によって，cDC や線維芽細胞などでは RIG-I によって認識されることがこれまでに *vitro* の実験で示されてきた[19,21]．TLR7 の下流シグナルは図 2 で示した TLR9 と同様にアダプター因子の Myd88 を介する．また RIG-I の下流シグナルは図 1 で示したとおりアダプター因子の IPS-1 を介する．最近われわれは *in vivo*（マウスの気道感染モデル）においても TLR7/Myd88 と RIG-I /IPS-1 の 2 つの経路が同様に存在し，インフルエンザ感染時にはこれらが相補的に作用することを示すとともに，Myd88・IPS-1 のダブル

ノックアウトマウスではⅠ型 IFN 反応が消失しウイルス排除が障害されることを示した[22]．

Ⅳ．RNA のアジュバント作用機序

RNA も先述のように TLR や RLR によって認識されると，Ⅰ型 IFN やさまざまな炎症性サイトカイン，ケモカインが分泌され，獲得免疫が誘導される．ここでは dsRNA のアジュバントとして poly（I：C）を，ssRNA のアジュバントとしてインフルエンザ全粒子不活化ワクチン（このワクチンにはインフルエンザウイルスの ssRNA が含まれる）を例にあげ概説する．

1．dsRNA のアジュバント作用機序～poly I：C～

Poly（I：C）はⅢ．1.「TLR3，MDA5 と poly（I：C）刺激」に示したように，TLR3/TRIF および MDA5/IPS-1 という 2 つの経路によって自然免疫応答が生じる．最近われわれは poly（I：C）のアジュバント効果にこれら 2 つの経路がどのような役割を果たしているかについて報告した．Wild type（WT），TRIF-/-，IPS-1-/-，TRIF-/-IPS-1-/-の 4 種類のマウスを用意し，OVA と Alum で免疫（腹腔内投与）する群と OVA と Alum と poly（I：C）で免疫する群に分けて獲得免疫の誘導の違いを評価したところ，おもに MDA5/IPS-1 の経路が重要な役割をもっているが，TLR3/TRIF の経路の関与もみられた．さらに TRIF-/-IPS-1-/-ダブルノックアウトマウスでは抗体産生，CD4 陽性 T 細胞からの IFNγ 産生，CD8 陽性 T 細胞の細胞傷害活性がいずれも誘導されなかった[23]．

2．ssRNA のアジュバント作用機序～インフルエンザ全粒子不活化ワクチン～

現在使用が勧められているインフルエンザ不活化ワクチンの形態は 3 つで，ウイルスをそのまま不活化した全粒子ワクチンと，ウイルスをばらばらにしたあと精製し，ヘマグルチニン（HA）やノイラミニダーゼ（NA）などのドミナント抗原だけを集めたスプリットワクチン，サブユニットワクチンがある．

後者に比べ，全粒子ワクチンのほうが免疫原性が高いことは以前より知られていたが，投与の際に生じる過剰な免疫反応（副反応？）によって，1970 年代より世界中でほとんど使用されなくなった．ところが，近年の H5N1 のトリからヒトへの感染による相次ぐ死亡例の報告から，ワクチンの真価が再確認されるようになった．

最近われわれはインフルエンザウイルス H1N1 のマウス気道感染後の HA に対する抗体価の誘導には，前述の TLR7/Myd88 と RIG-I /IPS-1 の 2 つの経路のうち TLR7/Myd88 を介する経路が重要であることを報告するとともに，全粒子不活化ワクチンを経鼻投与後の感染防御誘導においても TLR7/Myd88 を介する経路が重要であることを示した[22]．この結果からさらに，WT，TLR7-/-マウスを用意し，全粒子ワクチンおよびスプリットワクチンを同様に経鼻投与後，抗体価（血清 IgG および肺胞洗浄液 IgA）および致死量のウイルスに対する感染防御に誘導を比較したところ，WT の全粒子ワクチン投与例以外は有意に抗体価の減少と感染防御の障害を認めた．以上から全粒子ワクチンとスプリットワクチンの免疫原性の差は全粒子ワクチンに含まれる TLR7 リガンド，つまりウイルスの ssRNA によるものとわかった．

おわりに

18 世紀末にジェンナーが種痘法を開発し，その原理を解明することから免疫学が始まった．皮肉にも免疫学では理論が一人歩きし，新規の免疫治療・ワクチン開発という方向には十分に力が注がれてこなかったのが現状である．20 世紀末の TLR の発見により，現在では非常にたくさんの種類の自然免疫のリガンド，受容体，そのシグナル伝達物質が明らかとなり，特に核酸についてはワクチンやアジュバンドとしての作用機序の相当な部分が解明された．核酸は，ワクチンおよびアジュバントとして非常に有用である一方，宿主側の自己・非自己の識別が障害されればさまざまなアレルギーや自己免疫疾患の誘因にもなる．つまり核酸による自然免疫応答を上手に制御することができれば，強力で安全な免疫治療・ワクチン開発につながるだけでなく，アレルギーや自己免疫疾患の治療にもつながる可能性がある．核酸は免疫学を直接医療につなげる有望な candidate といえる．

謝辞：本研究は，大阪大学微生物病研究所自然免疫分野のジェバイ アチョバン先生，ヒマン シュクマール先生，河合太郎先生，竹内理先生，植松智先生，同研究所分子原虫学分野の堀井俊宏教授，大阪大学微研財団の谷本武史先生，横浜市立大学の武下文彦先生らの協力によりなされたものです．諸先生方にこの場をお借りして深謝いたします．

文　献

1) Akira S, et al：Pathogen recognition and innate immunity. Cell 124：783-801, 2006
2) Medzhitov R：Recognition of microorganisms and activation of the immune response. Nature 449：819-826, 2007
3) Nagata S：DNA degradation in development and programmed cell death. Annu Rev Immunol 23：853-875, 2005
4) Ishii KJ, Akira S：Innate immune recognition of, and regulation by, DNA. Trends Immunol 27：525-532, 2006
5) Hemmi H, et al：A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. Nature 408：740-745, 2000
6) Hemmi H, et al：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
7) Ishii KJ, et al：A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. Nat Immunol 7：40-48, 2006
8) Krieg AM：CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. Annu Rev Immunol 20：709-760, 2002
9) Klinman DM：Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. Nat Rev Immunol 4：249-258, 2004
10) Ishii KJ, Kawagoe T, et al：TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. Nature 451：725-729, 2008
11) Williams BR：PKR；a sentinel kinase for cellular stress. Oncogene 18：6112-6120, 1999
12) Alexopoulou L, et al：Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. Nature 413：732-738, 2001
13) Yoneyama M, et al：The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. Nat Immunol 5：730-737, 2004
14) Yoneyama M, et al：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
15) Diebold SS, et al：Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. Science 303：1529-1531, 2004
16) Ishii KJ, Akira S：TLR Ignores Methylated RNA? Immunity 23：111-113, 2005
17) Kariko K, et al：Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors：the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. Immunity 23：165-175, 2005
18) Pichlmair A, et al：RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. Science 314：997-1001, 2006
19) Kato H, Takeuchi O, et al：Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. Nature 441：101-105, 2006
20) Kawai T, Takahashi K, et al：IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. Nat Immunol 6：981-988, 2005
21) Diebold SS, et al：Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. Science 303：1529-1531, 2004
22) Koyama S, Ishii KJ, et al：Differential role of TLR- and RLR-signaling in the immune responses to influenza A virus infection and vaccination. J Immunol 179：4711-4720, 2007
23) Kumar H, Koyama S, et al：Cooperation of IPS-1- and TRIF-Dependent Pathways in Poly IC-Enhanced Antibody Production and Cytotoxic T Cell Responses. J Immunol 180：683-687, 2008

＊　＊　＊