

Toll-like receptor と自然免疫

植松 智, 審良 静男

細菌やウイルス, 寄生虫などの異物が体内に侵入した際にそれを排除しようとするシステムとして免疫系が存在する. この免疫系は自然免疫と獲得免疫からなる. T細胞やB細胞などによる獲得免疫系に比べて非特異的であると思われていた自然免疫系について近年 TLR (Toll-like receptors) の発見を通じて大きな進展が見られた. 病原微生物の構成成分による自然免疫担当細胞の活性化の主要な部分は TLR を介して行われ, その構成成分ごとに, また反応する細胞ごとに, 異なる特異的な応答が起こることが明らかになった. TLR の機能とシグナル伝達経路の解析によって, 自然免疫の新たな役割が解明されてきている.

はじめに

細菌やウイルス, 寄生虫などの病原体が生体に侵入すると, 免疫系はすみやかにそれらを検知し排除に働く. 哺乳類では免疫系は大きく自然免疫と獲得免疫に分けられる (表 1). 獲得免疫では, 遺伝子再構成という方法で無数の個々に異なる抗原特異性を持つ受容体が T細胞や B細胞表面に発現され, あらゆる未知の外來抗原に対処する. 一方, 自然免疫は主にマクロファージ, 樹状細胞, ナチュラキラー (NK) 細胞などによって担われる¹⁾. 元来, 自然免疫は, 非特異的な貪食作用によって病原体に対処するだけで, 獲得免疫が活性化されるまでの一時しのぎ的な役割しかしていないと考えられていた. しかしながら, この自然免疫に関わる免疫細胞もきわめて特異的な受容体を用いて微生物の侵入を認識していることが分かってきた. B細胞や T細胞がなく獲得免疫が存在しない昆虫でも, Toll と呼ばれる受容体が真菌を特異的に認識し, それに引き続く NF- κ B の活性化によって抗真菌ペプチドが誘導され, 真菌に対する感染防御が成立することが 1996 年に明らかとなった²⁾. その翌年には, 哺乳類においても Toll の存在

表 1 自然免疫と獲得免疫

	自然免疫	獲得免疫
細胞	マクロファージ 樹状細胞 NK細胞	B細胞 T細胞
受容体	再構成しない	再構成する
病原体の認識	病原体に特有な分子構造の認識	抗原特異的な認識

(Toll-like receptor, TLR) が明らかとなり³⁾, 自然免疫担当細胞の活性化の主要な部分は TLR を介して行われ, 各 TLR ごとに特異的な応答が起こることが判明した. 本稿では自然免疫における TLR の役割とシグナル伝達経路に関して概説する.

1. TLR の構造と病原体の認識

TLR は, 細胞外領域にロイシンリッチリピート (LRR) を, 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. MyD88, TIRAP, TRIF, TRAM といった細胞内のアダプターも TIR ドメインを持っている (図 1). 哺乳類の TLR は, 哺乳類には存在しないが微生物でよく保存された特徴的な構造を認識して細菌, 真菌, 寄生虫, ウイルスなどの様々な病原体の侵入を検知する. 哺乳類では, TLR は 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 (表 2)¹⁾.

大阪大学微生物病研究所自然免疫学 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1)

Toll-like receptor and innate immunity

Satoshi Uematsu and Shizuo Akira (Department of Host Defense Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3-1 Yamada-oka, Suita, Osaka, 565-0871, Japan)

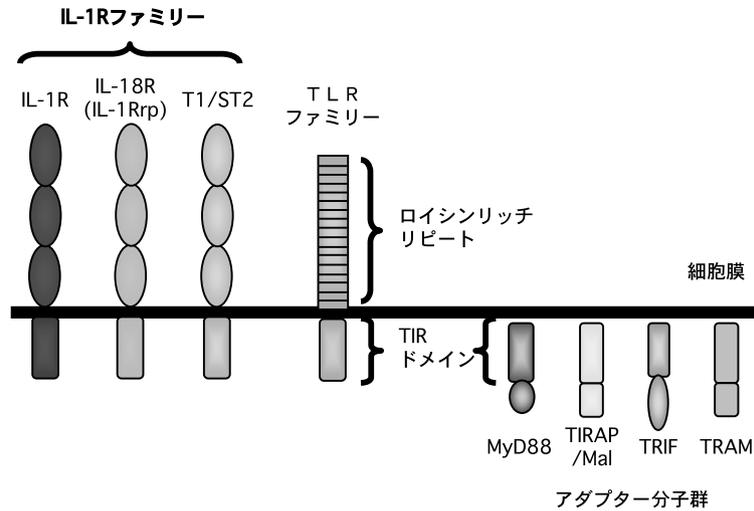


図1 TLRの構造

TLRは細胞外にロイシンリッチリピートを持つ。TLRとIL-1Rの細胞内領域は相同性を持ちTIR(Toll/IL-1R 相同性)ドメインと呼ばれる。MyD88, TIRAP/Mal, TRIF, TRAMといったTLRの細胞内のアダプター分子もTIRドメインを持っている。

表2 TLRファミリーの主なリガンド

TLRs	リガンド
TLR1	トリアシルリポペプチド (細菌) (TLR2とヘテロダイマーを形成)
TLR2	リポペプチド, ペプチドグリカン, リボタイコ酸 (細菌), ザイモザン (真菌), 原虫のGPIタンパク質 (寄生虫), ヘマグルチニン (ウイルス)
TLR3	Poly(I:C), 二本鎖RNA (ウイルス)
TLR4	LPS (細菌), RSVの融合タンパク質, MMTVの封入体タンパク質 (ウイルス)
TLR5	フラジェリン (細菌)
TLR6	ジアシルリポペプチドを認識 (細菌) (TLR2とヘテロダイマーを形成)
TLR7/TLR8	イミダゾキノリン誘導体と一本鎖RNA (ウイルス)
TLR9	CpG DNA (細菌, ウイルス, 寄生虫), ヘモゾイン (寄生虫)
TLR11	尿路感染細菌の菌体成分 (細菌), <i>T. gondii</i> のプロフィリン様分子 (寄生虫)

1.1. TLRによる細菌の認識

lipopolysaccharide (LPS)はグラム陰性細菌の細胞壁成分で、マクロファージ等の細胞に作用して炎症性サイトカインやNO等の炎症性生理活性物質の産生を誘導する。TLR4がLPSを認識する受容体であることが明らかになった^{4,5)}。LPSは血清中のLPS結合タンパク質(LBP)と複合体を形成し、この複合体がマクロファージの細胞表面のCD14と結合する。その後、LPSはToll-like receptor 4 (TLR4)と結合しシグナルが細胞質内に伝えられる。TLR4は単独でLPSのシグナルを伝えることができず、MD-2と呼ばれるアクセサリー分子を必要とする¹⁾。

TLR2はグラム陽性菌の細胞壁成分に存在するリポタイコ酸やペプチドグリカンを認識する⁶⁾。グラム陽性細菌の菌体成分に加えて、TLR2は様々な細菌のリポタンパク質やリポペプチドの認識に関わる。TLR1やTLR6はTLR2とヘテロダイマーを形成し、TLR1はトリアシルリポペプチドを^{7,8)}、TLR6はジアシルリポペプチドを認識する⁹⁾。このように、TLR1やTLR6はTLR2と協調的に働き、リ

ポペプチドの微細な構造の違いを認識している。

TLR2やTLR4が細菌の壁成分を主に認識するのに対し、TLR5は細菌鞭毛構成タンパク質であるフラジェリンを認識する¹⁰⁾。他のTLRと異なり、TLR5はマウスではマクロファージやconventional dendritic cell (cDC)には発現していなかった¹¹⁾。細胞株を用いた実験から、GewirtzらはTLR5が腸管上皮細胞の管腔側ではなく、基底膜側に発現していることを報告した¹²⁾。しかしながら、腸管上皮におけるTLR5の発現は、さほど高くはなく、粘膜固有層のCD11c⁺細胞に特異的に発現しており、フラジェリンに反応して炎症反応を誘導することが明らかになった¹¹⁾。

さらに、細菌のDNAもTLRのリガンドとして作用している。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、細菌のCpG DNAは宿主の免疫を活性化させることが以前より知られていた。細菌のCpG DNAを

認識するのがTLR9であることが明らかになった¹³⁾。

マウスのTLR11は、TLR5と類似の構造をしており、腎臓や尿管に発現している。ノックアウトマウスの解析から、TLR11が尿路感染細菌の構成成分を認識することが示唆された¹⁴⁾。しかしながら、TLR11はヒトでは偽遺伝子である。

1.2. 真菌や寄生虫の認識

TLRは*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carinii*といった、真菌の認識に関わる^{15,16)}。真菌の細胞膜から抽出したグルカン、マンナン、キチン、糖脂質、タンパク質などの混合物であるザイモザンはTLR2を介して免疫細胞を活性化することが示されている¹⁾。ザイモザンの免疫賦活化作用は主にβ-グルカンによると考えられている。Dectin-1はレクチンの一種でβ-グルカンを認識することが示された¹⁷⁾。また、Dectin-1はTLR2と機能的に協調して作用する¹⁶⁾。Dectin-1はspleen tyrosine kinase (Syk)を介してシグナルを伝え、IL-10を誘導することが示された。また、Dectin-1はTLR2と協調してTNF-αやIL-12といった炎症性サイトカインを産生した^{18~20)}。Grossらは、Card9が、ザイモザンによるDectin-1/Sykのシグナル伝達経路において、Bcl10/Malt1依存的なNF-κBの活性化に必要であることを報告した²¹⁾。最近、二つのグループがDectin-1のノックアウトマウスを作製した^{22,23)}。ザイモザンで刺激すると、IL-10産生は完全にDectin-1依存的であった。しかしながら、TNF-αはDectin-1のノックアウトマウスでは障害されておらず、TLR依存的であった。純度を高めたβ-グルカンで刺激をすると、IL-10もTNF-α産生もDectin-1依存的であったが、TNF-αの産生量は通常のザイモザンで刺激したときよりかなり少なかった。従って、Dectin-1はβ-グルカンの唯一の受容体であり、ザイモザンによると思われる大部分の炎症性サイトカイン産生は、混入していたβ-グルカン以外のTLRリガンドによるものだということが示唆された²³⁾。

TLRファミリーが*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*のglycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカーを認識することが報告された²⁴⁾。*T. cruzi*のGPIアンカーはTLR2/TLR6/CD14によって認識される²⁵⁾。また、*T. cruzi*には遊離のGPIアンカーが存在し、これらはTLR4/CD14によって認識される²⁶⁾。*L. major*のglycosylphosphatidylinositol-anchored lipophoglycan (LPG)は、TLR2を介してマクロファージを活性化させる。*T. gondii*のタキゾイトから分離されたGPIアンカーは、TLR2とTLR4を介して認識される²⁷⁾。*P. falciparum*のGPIアンカーでは、大部分をTLR2が、一部をTLR4が認識するといわれている。*P. falciparum*のGPIアンカーはマクロファージ表面のphospholipase A2 (PLA2)

やPLDによって分解されることが知られている。完全体はTLR2/TLR1で分解型はTLR2/TLR6によって認識しわけられる²⁸⁾。

GPIアンカー以外の原虫の構成成分もTLRを活性化することが報告されている。原虫にもCpG DNAが存在し、これらはTLR9を介して宿主の免疫を活性化させることが報告されている^{29~31)}。マラリア原虫は、赤血球内で宿主ヘモグロビンを食べてヘモゾインと呼ばれる疎水性のヘムのポリマーをつくる。ヘモゾインがTLR9によって認識されることが明らかになった³²⁾。また、TLR11は*T. gondii*のプロフィリン様分子を認識することがノックアウトマウスの解析から明らかになった³³⁾。

1.3. TLRによるウイルスの認識

TLR4がrespiratory syncytial virus (RSV)の融合タンパク質の認識に関わることが報告された³⁴⁾。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³⁵⁾。さらに、mouse mammary tumor virus (MMTV)の封入体の糖タンパク質がTLR4を介してB細胞を活性化させることが報告された³⁶⁾。

二本鎖RNA (double stranded RNA: dsRNA)は免疫細胞を活性化させ、抗ウイルス作用を持つI型インターフェロン (IFNα/β)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明らかとなった³⁷⁾。

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のリガンドであるCpG DNAはウイルスにも存在し、形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cell: PDC)から大量のIFN-αを誘導することが知られている。この結果に一致して、DNAウイルスであるherpes simplex virus-2 (HSV-2)がTLR9を介してPDCを刺激しIFN-αを産生させることが明らかとなり³⁸⁾、TLR9がDNAウイルスのCpG配列を認識して抗ウイルス作用を発揮することが明らかになった^{39~41)}。

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を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誘導することが明らかになった⁴²⁾。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 stranded RNA：ssRNA）を認識することが明らかになった^{43,44}。このように、個々のTLRは、異なる病原体成分を認識し、生体内へのあらゆる種類の病原体の侵入を感知する受容体であることが判明した。

2. TLRのシグナル伝達経路

2.1. MyD88依存経路（図2）

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 receptor associated kinase（IRAK）-1とIRAK-4に結合し活性化させる。IRAKsはMyD88から離れ、TNF receptor associated factor 6（TRAF6）と介合する。TRAF6はE3リガーゼで、Ubc13およびUev1Aと複合体を形成し、lysine 63に関連したポリユビキチン鎖の合成を促進することによって、MAP kinase kinase kinase（MAPKKK）であるTAK1を活性化する。TAK1はTAB1、TAB2、TAB3とともに、I κ B kinase（IKK）複合体とMAPKの二つの経路を活性化させる。IKK複合体は、IKK α 、IKK β 、IKK γ /NEMOから

なり、I κ Bをリン酸化して分解を誘導し、転写因子のNF- κ Bを核に移行させる。MAPKファミリーメンバーは、転写因子AP1をリン酸化し活性化する。この経路はMyD88依存経路と呼ばれ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^{45,46}。また、転写因子interferon regulatory factor（IRF）5がMyD88依存経路に関わることが報告された。IRF5はMyD88やTRAF6と会合し、様々なTLRのリガンド刺激で核移行した。IRF5の欠損マウスではTLR3、4、5、7、9による炎症性サイトカイン産生が障害されていた⁴⁷。

2.2. TRIF依存経路（図2）

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

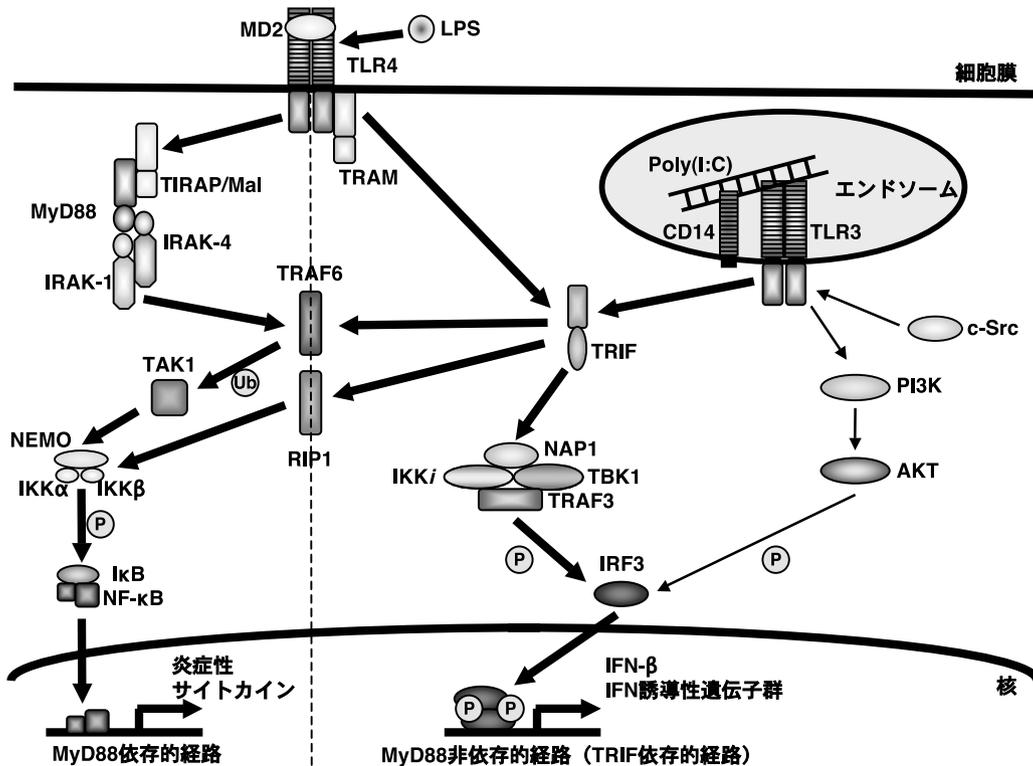


図2 MyD88依存経路と非依存経路（TRIF依存経路）

リガンドの刺激を受けると、TLR3を除く全てのTLRはMyD88と結合し、これを介してIRAKs/TRAF6/IKKs/I κ B/NF κ Bの順にシグナルが伝達され、炎症性サイトカインが誘導される。この経路をMyD88依存経路という。TLR3とTLR4にはMyD88非依存的経路が存在する。この経路を担うアダプターがTRIFで、IKKi/TBK1依存的に転写因子IRF3を活性化してIFN- β やIFN誘導性遺伝子群の発現が誘導される。TLR4のMyD88非依存的経路にはさらにTRAMを必要とする。

が明らかになった⁴⁸⁻⁵¹。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⁵²⁻⁵⁴。TRAMのN末端はミリスチル化部位を持ち、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⁵⁵。また、TRAMはPKCεによってリン酸化されることがシグナル伝達において必要であることが報告された⁵⁶。

TLR3はエンドソームに局在しており、CD14と相互作用する。CD14はPoly(I:C)の取り込みや、TLR3のシグナルを増幅すると考えられている⁵⁷。また、チロシンキナーゼのc-SrcもPoly(I:C)の刺激でTLR3と介合し、TLR3を介するシグナル伝達に必要であった⁵⁸。

TLR3やTLR4が刺激を受けると、TRIFはTRAF3とNAK-associated protein 1 (NAP1)を介してTBK1とIKK_iに結合する⁵⁹⁻⁶¹。TBK1とIKK_iが転写因子interferon regulatory factor 3 (IRF3)をリン酸化するとIRF3は二量体化して核移行し、IFN-βやIFN誘導性遺伝子の発現を誘導する⁶²⁻⁶⁶。TBK1/IKK_iに加えて、TLR3を介するシグナル伝

達経路では、phosphoinositide 3-kinase (PI3K)とその下流のAKTが活性化され、IRF3の完全な活性化が誘導される⁶⁷。また、IRF3の活性化を負に制御する因子として、TRAF1、TRAF4や^{68,69}ペプチジルプロピルイソメラーゼのPin1等が知られている⁷⁰。

TRAF6はTRIFと結合し協調的にNF-κBを活性化させることが報告された^{71,72}。しかしながら、TRAF6とMyD88のダブルノックアウトマウスではなおLPSによるNF-κB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依存のと非依存的な経路でNF-κBを活性化することが示唆された^{73,74}。

TRIFはC末端にRip homotypic interaction motif (RHIM)を持ち、これを介してreceptor-interacting protein-1 (RIP1)およびRIP3と会合する^{71,72}。RIP1はTRIF依存的なNF-κBの活性化に必須の分子であるのに対し、RIP3は抑制的に働くと考えられている⁷²。

2.3. plasmacytoid DC (pDC) に特異的な経路

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

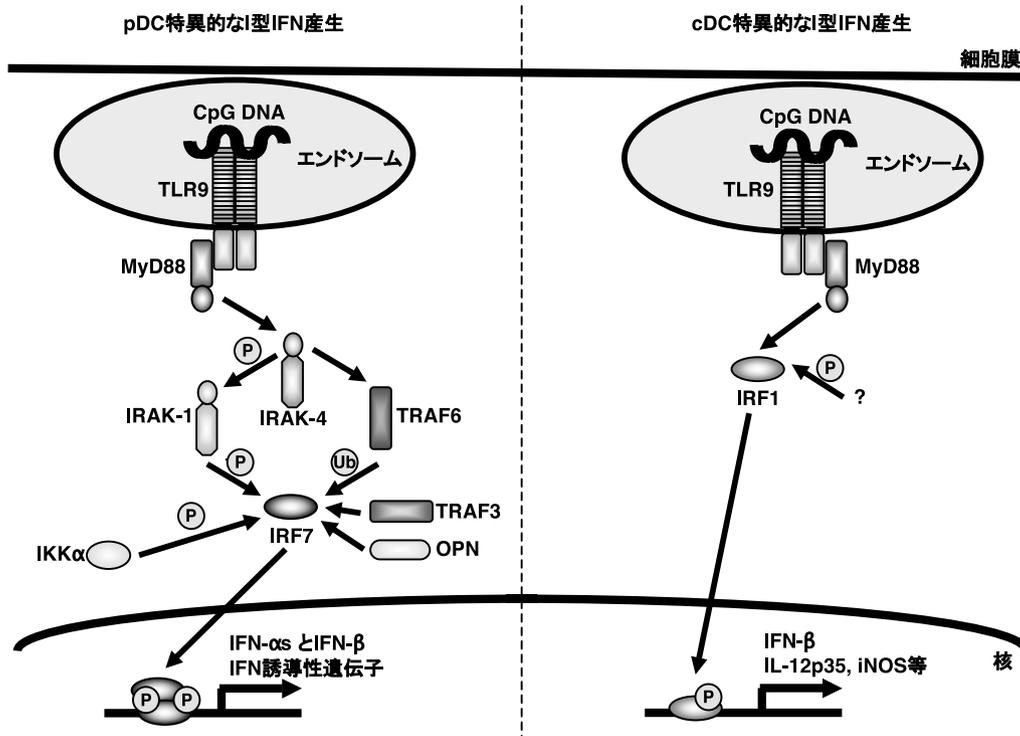


図3 pDCとcDCにおけるTLR9を介するI型IFN誘導
 pDCはTLR7とTLR9を発現しており、ssRNAやCpG DNAに反応して大量のIFN-αsやIFN-βを誘導する。これらの誘導はMyD88依存的である。リガンドで刺激をされると、転写因子のIRF7が核移行し、I型IFNの誘導を行う。IRF7はMyD88、IRAKsそしてTRAF6と細胞質内で複合体を形成し活性化される。IKK-α、TRAF3そしてオステオポンチンもIRF7の活性化に関わることが報告された。一方、cDCもTLR9のリガンドに反応して少量のIFN-β、IL-12p35、iNOS等を誘導する。この経路では、IRF7ではなくIRF1が必須の役割を担う。IRF1の活性化はまだ不明である。
 Ub; ユビキチン化, P; リン酸化。

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ており, 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⁷⁵⁾. 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⁷⁵⁾. pDC は TLR7 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. 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⁷⁶⁾. 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⁷⁷⁻⁷⁹⁾. 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⁸⁰⁾. 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⁷⁷⁾. さらに, TRAF3 のノックアウトマウスにおいても, TLR9 を介する IFN- α 産生が障害されていたが, TRAF3 がこのシグナル伝達経路においてどのような役割をしているかははっきりしていない⁵⁹⁾. 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⁸¹⁾. 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. また, オステオポンチンも TLR9 を介する IFN- α 産生に特異的に関わることを示されている⁸²⁾ (図 3).

GM-CSF で誘導した DC も TLR9 のリガンドに反応して少量の IFN- β を産生する. 最近, この IFN- β の誘導には IRF7 ではなく IRF1 が関わることを示された^{83,84)}. このように, 同じ TLR のリガンドであっても, 細胞によって全く異なるシグナル伝達経路を用いて I 型 IFN を誘導することが明らかになった (図 3).

ま と め

自然免疫は, 獲得免疫が活性化されるまでの火急的で非特異的な免疫反応に過ぎないと長らく考えられてきた. しかし, TLR の機能とシグナル伝達が解析され, 自然免疫の役割が明らかになってきた. 当初, TLR は細菌の菌体成分を認識すると考えられていたが, TLR ファミリーは真菌, 寄生虫, そしてウイルスの認識にも関わり, あらゆる病原体に対し第一線の防御を行うことが分かってきた. そして, そのシグナル伝達も各 TLR ファミリーメンバーごとに固有かつ多彩であり, さらに細胞特異性もあることが明らかになった. このシグナルの多様性によって様々な免疫反応を惹起し, 病原体の侵入に対応していると考えられる. TLR の解析の過程で, TLR 以外にも病原体の侵入

を感知する自然免疫受容体群が同定され, それらの研究も精力的に行われている. 今後, より包括的な自然免疫の機能解析が期待される.

文 献

- 1) Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006) *Cell*, 124, 783-801.
- 2) Lemaitre, B., Nicolas, E., Michaut, L., Reichhart, J.M., & Hoffmann, J.A. (1996) *Cell*, 86, 973-983.
- 3) Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., & Janeway, C.J. (1997) *Nature*, 388, 394-397.
- 4) Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M.Y., Van Huffel, C., Du, X., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Galanos, C., Freudenberg, M., Ricciardi-Castagnoli, P., Layton, B., & Beutler, B. (1998) *Science*, 282, 2085-2088.
- 5) Hoshino, K., Takeuchi, O., Kawai, T., Sanjo, H., Ogawa, T., Takeda, Y., Takeda, K., & Akira, S. (1999) *J. Immunol.*, 162, 3749-3752.
- 6) Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., Takeda, K., & Akira, S. (1999) *Immunity*, 11, 443-451.
- 7) Alexopoulou, L., Thomas, V., Schnare, M., Lobet, Y., Anguita, J., Schoen, R.T., Medzhitov, R., Fikrig, E., & Flavell, R.A. (2002) *Nat. Med.*, 8, 878-884.
- 8) Takeuchi, O., Sato, S., Horiuchi, T., Hoshino, K., Takeda, K., Dong, Z., Modlin, R.L., & Akira, S. (2002) *J. Immunol.*, 169, 10-14.
- 9) Takeuchi, O., Kawai, T., Muhlrardt, P.F., Morr, M., Radolf, J. D., Zychlinsky, A., Takeda, K., & Akira, S. (2001) *Int. Immunol.*, 13, 933-940.
- 10) Hayashi, F., Smith, K.D., Ozinsky, A., Hawn, T.R., Yi, E.C., Goodlett, D.R., Eng, J.K., Akira, S., Underhill, D.M., & Aderem, A. (2001) *Nature*, 410, 1099-1103.
- 11) Uematsu, S., Jang, M.H., Chevrier, N., Guo, Z., Kumagai, Y., Yamamoto, M., Kato, H., Sougawa, N., Matsui, H., Kuwata, H., Hemmi, H., Coban, C., Kawai, T., Ishii, K.J., Takeuchi, O., Miyasaka, M., Takeda, K., & Akira, S. (2006) *Nat. Immunol.*, 8, 868-874.
- 12) Gewirtz, A.T., Navas, T.A., Lyons, S., Godowski, P.J., & Madara, J.L. (2001) *J. Immunol.*, 167 (4), 1882-1885.
- 13) Hemmi, H., Takeuchi, O., Kawai, T., Kaisho, T., Sato, S., Sanjo, H., Matsumoto, M., Hoshino, K., Wagner, H., Takeda, K., & Akira, S. (2000) *Nature*, 408, 740-745.
- 14) Zhang, D., Zhang, G., Hayden, M.S., Greenblatt, M.B., Bussey, C., Flavell, R.A., & Ghosh, S. (2004) *Science*, 303, 1522-1526.
- 15) Takeda, K., Kaisho, T., & Akira, S. (2003) *Annu. Rev. Immunol.*, 21, 335-376.
- 16) Netea, M.G., Vander Graaf, C., Vander Meer, J.W., & Kullberg, B.J. (2004) *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 23, 672-676.
- 17) Brown, G.D., Taylor, P.R., Reid, D.M., Willment, J.A., Williams, D.L., Martinez-Pomares, L., Wong, S.Y., & Gordon, S. (2002) *J. Exp. Med.*, 196, 407-412.
- 18) Gantner, B.N., Simmons, R.M., Canavera, S.J., Akira, S., & Underhill, D.M. (2003) *J. Exp. Med.*, 197, 1107-1117.
- 19) Rogers, N.C., Slack, E.C., Edwards, A.D., Nolte, M.A., Schulz, O., Schweighoffer, E., Williams, D.L., Gordon, S., Tybulewicz, V.L., Brown, G.D., & Reis, E.S.C. (2005) *Immunity*, 22, 507-

- 517.
- 20) Underhill, D.M., Rosnagle, E., Lowell, C.A., & Simmons, R. M. (2005) *Blood*, 106, 2543-2550.
 - 21) Gross, O., Gewies, A., Finger, K., Schafer, M., Sparwasser, T., Peschel, C., Forster, I., & Ruland, J. (2006) *Nature*, 442 (7103), 651-656.
 - 22) Torok, H.P., Glas, J., Tonenchi, L., Mussack, T., & Folwaczny, C. (2004) *Clin. Immunol.*, 112, 85-91.
 - 23) Saijo, S., Fujikado, N., Furuta, T., Chung, S.H., Kotaki, H., Seki, K., Sudo, K., Akira, S., Adachi, Y., Ohno, N., Kinjo, T., Nakamura, K., Kawakami, K., & Iwakura, Y. (2007) *Nat. Immunol.*, 8, 39-46.
 - 24) Campos, M.A., Almeida, I.C., Takeuchi, O., Akira, S., Valente, E.P., Procopio, D.O., Travassos, L.R., Smith, J.A., Golenbock, D.T., & Gazzinelli, R.T. (2001) *J. Immunol.*, 167, 416-423.
 - 25) Ropert, C. & Gazzinelli, R.T. (2004) *J. Endotoxin. Res.*, 10, 425-430.
 - 26) Oliveira, A.C., Peixoto, J.R., de Arruda, L.B., Campos, M.A., Gazzinelli, R.T., Golenbock, D.T., Akira, S., Previato, J.O., Mendonca-Previato, L., Nobrega, A., & Bellio, M. (2004) *J. Immunol.*, 173, 5688-5696.
 - 27) Gazzinelli, R.T. & Denkers, E.Y. (2006) *Nat. Rev. Immunol.*, 6, 895-906.
 - 28) Krishnegowda, G., Hajjar, A.M., Zhu, J., Douglass, E.J., Uematsu, S., Akira, S., Woods, A.S., & Gowda, D.C. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 8606-8616.
 - 29) Harris, T.H., Cooney, N.M., Mansfield, J.M., & Paulnock, D. M. (2006) *Infect. Immun.*, 74, 4530-4537.
 - 30) Shoda, L.K., Kegerreis, K.A., Suarez, C.E., Roditi, I., Corral, R.S., Bertot, G.M., Norimine, J., & Brown, W.C. (2001) *Infect. Immun.*, 69, 2162-2171.
 - 31) Brown, W.C. & Corral, R.S. (2002) *Microbes. Infect.*, 4, 969-974.
 - 32) Coban, C., Ishii, K.J., Kawai, T., Hemmi, H., Sato, S., Uematsu, S., Yamamoto, M., Takeuchi, O., Itagaki, S., Kumar, N., Horii, T., & Akira, S. (2005) *J. Exp. Med.*, 201, 19-25.
 - 33) Yarovinsky, F., Zhang, D., Andersen, J.F., Bannenberg, G.L., Serhan, C.N., Hayden, M.S., Hieny, S., Sutterwala, F.S., Flavell, R.A., Ghosh, S., & Sher, A. (2005) *Science*, 305, 1626-1629.
 - 34) Kurt-Jones, E.A., Popova, L., Kwinn, L., Haynes, L.M., Jones, L.P., Tripp, R.A., Walsh, E.E., Freeman, M.W., Golenbock, D. T., Anderson, L.J., & Finberg, R.W. (2000) *Nat. Immunol.*, 1, 398-401.
 - 35) Haynes, L.M., Moore, D.D., Kurt-Jones, E.A., Finberg, R.W., Anderson, L.J., & Tripp, R.A. (2001) *J. Virol.*, 75, 10730-10737.
 - 36) Rassa, J.C., Meyers, J.L., Zhang, Y., Kudaravalli, R., & Ross, S.R. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 2281-2286.
 - 37) Alexopoulou, L., Holt, A.C., Medzhitov, R., & Flavell, R.A. (2001) *Nature*, 413, 732-738.
 - 38) Lund, J., Sato, A., Akira, S., Medzhitov, R., & Iwasaki, A. (2003) *J. Exp. Med.*, 198, 513-520.
 - 39) Krug, A., French, A.R., Barchet, W., Fischer, J.A., Dzionek, A., Pingel, J.T., Orihuela, M.M., Akira, S., Yokoyama, W.M., & Colonna, M. (2004) *Immunity*, 21, 107-119.
 - 40) Krug, A., Luker, G.D., Barchet, W., Leib, D.A., Akira, S., & Colonna, M. (2004) *Blood*, 103, 1433-1437.
 - 41) Tabeta, K., Georgel, P., Janssen, E., Du, X., Hoebe, K., Crozat, K., Mudd, S., Shamel, L., Sovath, S., Goode, J., Alexopoulou, L., Flavell, R.A., & Beutler, B. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 3516-3521.
 - 42) Hemmi, H., Kaisho, T., Takeuchi, O., Sato, S., Sanjo, H., Hoshino, K., Horiuchi, T., Tomizawa, H., Takeda, K., & Akira, S. (2002) *Nat. Immunol.*, 3, 196-200.
 - 43) Diebold, S.S., Kaisho, T., Hemmi, H., Akira, S., Reis, E., & Sousa, C. (2004) *Science*, 303, 1529-1531.
 - 44) Heil, F., Hemmi, H., Hochrein, H., Ampenberger, F., Kirschning, C., Akira, S., Lipford, G., Wagner, H., & Bauer, S. (2004) *Science*, 303, 1526-1529.
 - 45) Yamamoto, M., Sato, S., Hemmi, H., Sanjo, H., Uematsu, S., Kaisho, T., Hoshino, K., Takeuchi, O., Kobayashi, M., Fujita, T., Takeda, K., Akira, S. (2002) *Nature*, 420, 324-329.
 - 46) Horng, T., Barton, G.M., Flavell, R.A., & Medzhitov, R. (2002) *Nature*, 420, 329-333.
 - 47) Takaoka, A., Yanai, H., Kondo, S., Duncan, G., Negishi, H., Mizutani, T., Kano, S., Honda, K., Ohba, Y., Mak, T.W., & Taniguchi, T. (2005) *Nature*, 434 (7030), 243-249.
 - 48) Yamamoto, M., Sato, S., Mori, K., Hoshino, K., Takeuchi, O., Takeda, K., & Akira, S. (2002) *J. Immunol.*, 169, 6668-6672.
 - 49) Oshiumi, H., Matsumoto, M., Funami, K., Akazawa, T., & Seya, T. (2003) *Nat. Immunol.*, 4 (2), 161-167.
 - 50) Yamamoto, M., Sato, S., Hemmi, H., Hoshino, K., Kaisho, T., Sanjo, H., Takeuchi, O., Sugiyama, M., Okabe, M., Takeda, K., & Akira, S. (2003) *Science*, 301, 640-643.
 - 51) Hoebe, K., Du, X., Georgel, P., Janssen, E., Tabeta, K., Kim, S.O., Goode, J., Lin, P., Mann, N., Mudd, S., Crozat, K., Sovath, S., Han, J., & Beutler, B. (2003) *Nature*, 424 (6950), 743-748.
 - 52) Yamamoto, M., Sato, S., Hemmi, H., Uematsu, S., Hoshino, K., Kaisho, T., Takeuchi, O., Takeda, K., & Akira, S. (2003) *Nat Immunol.*, 4, 1144-1150.
 - 53) Fitzgerald, K.A., Rowe, D.C., Barnes, B.J., Caffrey, D.R., Visintin, A., Latz, E., Monks, B., Pitha, P.M., & Golenbock, D.T. (2003) *J. Exp. Med.*, 198, 1043-1055.
 - 54) Oshiumi, H., Sasai, M., Shida, K., Fujita, T., Matsumoto, M., & Seya, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278(50), 49751-49762.
 - 55) Rowe, D.C., McGettrick, A.F., Latz, E., Monks, B.G., Gay, N. J., Yamamoto, M., Akira, S., O'Neill, L.A., Fitzgerald, K.A., & Golenbock, D.T. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103, 6299-6304.
 - 56) McGettrick, A.F., Brint, E.K., Palsson-McDermott, E.M., Rowe, D.C., Golenbock, D.T., Gay, N.J., Fitzgerald, K.A., & O'Neill, L.A. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103, 9196-9201.
 - 57) Lee, H.K., Dunzendorfer, S., Soldau, K., & Tobias, P.S. (2006) *Immunity*, 24, 153-163.
 - 58) Johnsen, I.B., Nguyen, T.T., Ringdal, M., Tryggestad, A.M., Bakke, O., Lien, E., Espevik, T., & Anthonen, M.W. (2006) *Embo J.*, 25(14), 3335-3346.
 - 59) Oganessian, G., Saha, S.K., Guo, B., He, J.Q., Shahangian, A., Zarnegar, B., Perry, A., & Cheng, G. (2006) *Nature*, 439, 208-211.
 - 60) Hacker, H., Redecke, V., Blagoev, B., Kratchmarova, I., Hsu, L.C., Wang, G.G., Kamps, M.P., Raz, E., Wagner, H., Hacker, G., Mann, M., & Karin, M. (2006) *Nature*, 439, 204-207.
 - 61) Sasai, M., Oshiumi, H., Matsumoto, M., Inoue, N., Fujita, F., Nakanishi, M., & Seya, T. (2005) *J. Immunol.*, 174, 27-30.
 - 62) Sharma, S., tenOever, B.R., Grandvaux, N., Zhou, G.P., Lin, R., & Hiscott, J. (2003) *Science*, 300, 1148-1151.
 - 63) Fitzgerald, K.A., McWhirter, S.M., Faia, K.L., Rowe, D.C., Latz, E., Golenbock, D.T., Coyle, A.J., Liao, S.M., & Maniatis, T. (2003) *Nat. Immunol.*, 4, 491-496.
 - 64) McWhirter, S.M., Fitzgerald, K.A., Rosains, J., Rowe, D.C.,

- Golenbock, D.T., & Maniatis, T. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 233–238.
- 65) Hemmi, H., Takeuchi, O., Sato, S., Yamamoto, M., Kaisho, T., Sanjo, H., Kawai, T., Hoshino, K., Takeda, K., & Akira, S. (2004) *J. Exp. Med.*, **199**, 1641–1650.
- 66) Perry, A.K., Chow, E.K., Goodnough, J.B., Yeh, W.C., & Cheng, G. (2004) *J. Exp. Med.*, **199**, 1651–1658.
- 67) Sarkar, S.N., Peters, K.L., Elco, C.P., Sakamoto, S., Pal, S., & Sen, G.C. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 1060–1067.
- 68) Su, X., Li, S., Meng, M., Qian, W., Xie, W., Chen, D., Zhai, Z., & Shu, H.B. (2006) *Eur. J. Immunol.*, **36**, 199–206.
- 69) Takeshita, F., Ishii, K.J., Kobiyama, K., Kojima, Y., Coban, C., Sasaki, S., Ishii, N., Klinman, D.M., Okuda, K., Akira, S., & Suzuki, K. (2005) *Eur. J. Immunol.*, **35**, 2477–2485.
- 70) Saitoh, T., Tun-Kyi, A., Ryo, A., Yamamoto, M., Finn, G., Fujita, T., Akira, S., Yamamoto, N., Lu, K.P., & Yamaoka, S. (2006) *Nat. Immunol.*, **7**, 598–605.
- 71) Sato, S., Sugiyama, M., Yamamoto, M., Watanabe, Y., Kawai, T., Takeda, K., & Akira, S. (2003) *J. Immunol.*, **171**, 4304–4310.
- 72) Meylan, E., Burns, K., Hofmann, K., Blancheteau, V., Martinon, F., Kelliher, M., & Tschopp, J. (2004) *Nat. Immunol.*, **5**, 503–507.
- 73) Kawai, T., Takeuchi, O., Fujita, T., Inoue, J., Muhlradt, P.F., Sato, S., Hoshino, K., & Akira, S. (2001) *J. Immunol.*, **167**, 5887–5894.
- 74) Gohda, J., Matsumura, T., & Inoue, J. (2004) *J. Immunol.*, **173**, 2913–2917.
- 75) Liu, Y.J. (2005) *Annu. Rev. Immunol.*, **23**, 275–306.
- 76) Hemmi, H., Kaisho, T., Takeda, K., & Akira, S. (2003) *J. Immunol.*, **170**, 3059–3064.
- 77) Kawai, T., Sato, S., Ishii, K.J., Coban, C., Hemmi, H., Yamamoto, M., Terai, K., Matsuda, M., Inoue, J., Uematsu, S., Takeuchi, O., & Akira, S. (2004) *Nat. Immunol.*, **5**, 1061–1068.
- 78) Honda, K., Yanai, H., Mizutani, T., Negishi, H., Shimada, N., Suzuki, N., Ohba, Y., Takaoka, A., Yeh, W.C., & Taniguchi, T. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 15416–15421.
- 79) Honda, K., Yanai, H., Negishi, H., Asagiri, M., Sato, M., Mizutani, T., Shimada, N., Ohba, Y., Takaoka, A., Yoshida, N., & Taniguchi, T. (2005) *Nature*, **434**, 772–777.
- 80) Uematsu, S., Sato, S., Yamamoto, M., Hirotsu, T., Kato, H., Takeshita, F., Matsuda, M., Coban, C., Ishii, K.J., Kawai, T., Takeuchi, O., & Akira, S. (2005) *J. Exp. Med.*, **201**, 915–923.
- 81) Hoshino, K., Sugiyama, T., Matsumoto, M., Tanaka, T., Saito, M., Hemmi, H., Ohara, O., Akira, S., & Kaisho, T. (2006) *Nature*, **440**, 949–953.
- 82) Shinohara, M.L., Lu, L., Bu, J., Werneck, M.B., Kobayashi, K. S., Glimcher, L.H., & Cantor, H. (2006) *Nat. Immunol.*, **7**, 498–506.
- 83) Negishi, H., Fujita, Y., Yanai, H., Sakaguchi, S., Ouyang, X., Shinohara, M., Takayanagi, H., Ohba, Y., Taniguchi, T., & Honda, K. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 15136–15141.
- 84) Schmitz, F., Heit, A., Guggemoos, S., Krug, A., Mages, J., Schiemann, M., Adler, H., Drexler, I., Haas, T., Lang, R., & Wagner, H. (2007) *Eur. J. Immunol.*, **37**, 315–327.
-