

インフルエンザウイルスに対する新しい防御機構を解明

1. 発表者：

一戸 猛志（東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター ウイルス学分野 准教授）
森山 美優（研究当時：東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター ウイルス学分野
大学院生、現在：福岡大学理学部化学科機能生物化学研究室 / 日本学術振興会
特別研究員）

2. 発表のポイント：

- ◆インフルエンザウイルスが細胞質中にミトコンドリア DNA を放出させるメカニズムを解明した。
- ◆細胞質中のミトコンドリア DNA は細胞内の DNA センサーを介してインターフェロン応答を誘導し、インフルエンザウイルスの増殖を抑制していることを明らかにした。
- ◆インフルエンザワクチンの効果を高めるアジュバントの開発やインフルエンザウイルスの病原性発現機構の解明などに役立つと期待される。

3. 発表概要：

DNA ウイルスが細胞に感染すると細胞内の DNA センサーがウイルス DNA を認識してインターフェロン（注 1）応答を誘導することが知られています。最近の研究では、一部の RNA ウイルスが細胞に感染した場合でも細胞質中にミトコンドリア DNA（注 2）が放出されて、細胞内の DNA センサーを介してインターフェロン応答が誘導されることが報告されています。しかし RNA ウイルスがどのようにミトコンドリア DNA を放出させるのかは不明でした。東京大学医科学研究所感染症国際研究センターウイルス学分野の一戸猛志准教授、森山美優大学院生（研究当時）らの研究グループは、インフルエンザウイルスの複製に必須の M2 タンパク質（注 3）が、ミトコンドリア DNA の放出を引き起こしていることを突き止めました。インフルエンザウイルスの感染によって細胞質中に放出されたミトコンドリア DNA は、細胞内の DNA センサーである cGAS や DDX41 とそのアダプタータンパク質である STING を介してインターフェロン β を誘導していました。さらに STING を欠損したマウスでは、インフルエンザウイルス感染 5 日目の肺のウイルス量が、野生型マウスと比較して有意に増加していたことから、この STING 依存的なインターフェロン応答が生体内でインフルエンザウイルスの増殖を抑制するのに必須であることも明らかとなりました。さらにインフルエンザウイルスの NS1 タンパク質はミトコンドリア DNA と相互作用することにより、細胞内の DNA センサーからミトコンドリア DNA が検出されることを逃れていることも明らかとなりました。本研究成果は、インフルエンザウイルスワクチンの効果を高めるアジュバント（注 4）の開発や、インフルエンザウイルスが効率よく増殖するメカニズムの解明、インフルエンザウイルスの病原性発現機構の解明に繋がると期待されます。

本研究は、東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業、日本学術振興会特別研究員事業などの一環として、また先進医薬研究振興財団および東京生化学研究会の助成を受けて得られたものです。研究成果は 2019 年 10 月 11 日の英国科学雑誌「*Nature Communications*」のオンライン版で公開されました。

4. 発表内容：

① 研究の背景・先行研究における問題点

細胞内の DNA または RNA センサーがウイルスの核酸 (DNA または RNA) を認識することが、細胞がウイルスの侵入を感知する主な仕組みです。単純ヘルペスウイルス 1 型 (Herpes simplex virus type 1: HSV-1) やワクシニアウイルス (Vaccinia virus: VACV) などの DNA ウイルスが細胞に感染すると、細胞内の DNA センサーである cGAS が細胞内のウイルス二本鎖 DNA を認識することにより、cGAMP (cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate) を合成し、STING を介してインターフェロンを誘導します。興味深いことに DNA ウイルスではない水疱性口内炎ウイルス (vesicular stomatitis virus: VSV)、センダイウイルス (Sendai virus: SeV)、脳心筋炎ウイルス (encephalomyocarditis virus: EMCV)、ニューカッスル病ウイルス (Newcastle disease virus: NDV) などの RNA ウイルスが細胞に感染した場合にも、cGAS 依存的にインターフェロン応答が誘導されることが知られていました。VSV やリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic Choriomeningitis Virus: LCMV)、シンドビスウイルス (Sindbis virus: SINV)、デングウイルス (dengue virus: DENV) などの RNA ウイルスが細胞に感染するとミトコンドリア DNA が細胞質中へ放出されるため、この細胞質中のミトコンドリア DNA が cGAS 依存的なインターフェロン応答を誘導していると考えられています。しかし RNA ウイルスがどのようにしてミトコンドリア DNA を細胞質中へ放出させているのかは不明でした。

② 研究内容

研究グループは、インフルエンザウイルス感染細胞では細胞質中にミトコンドリア DNA が多く検出されることを見出しました。インフルエンザウイルスの感染によって細胞質中にミトコンドリア DNA が放出されるメカニズムを解析したところ、インフルエンザウイルスが細胞に侵入するときや、細胞から出芽するときに必要なウイルスの M2 タンパク質が、ミトコンドリア DNA の放出を引き起こしていることを突き止めました。この M2 タンパク質はプロトン選択的なイオンチャネルタンパク質であり、このイオンチャネル活性を欠損した変異型 M2 タンパク質は、ミトコンドリア DNA の放出を起こさないことも確認しました。またカルシウムイオンチャネルとして機能することが知られている EMCV の 2B タンパク質を細胞に発現させると、それだけでミトコンドリア DNA が細胞質中へ放出されることも明らかとなりました。インフルエンザウイルスや EMCV の感染によって、細胞質中へ放出されたミトコンドリア DNA はミトコンドリア転写因子 A (mitochondrial transcription factor A : TFAM (注 5)) が結合した状態であると考えられるものの、細胞内 DNA センサーである cGAS や DDX41 は細胞質中ミトコンドリア DNA を認識したあと、その下流の STING を介してインターフェロン β を誘導していることが分かりました。この STING 依存的なシグナルは、ギャップ結合を介してウイルス感染細胞と隣接する周囲の細胞へ伝達されることにより、ウイルスに感染していない細胞においてもインターフェロン応答を増幅させていることも明らかとなりました。さらに STING を欠損したマウスでは、インフルエンザウイルス感染 5 日目の肺のウイルス量が、野生型マウスと比較して有意に増加していたことから、この STING 依存的なインターフェロン応答が生体内でインフルエンザウイルスの増殖を抑制するのに必須であることも明らかとなりました。さらにインフルエンザウイルスの NS1 タンパク質は、その RNA 結合ドメイン (NS1 タンパク質 38 番目のアルギニンと 41 番目のリシン) を介してミトコンドリア DNA と相互作用することによ

り、細胞内の DNA センサーからミトコンドリア DNA が検出されることを逃れていることも明らかとなりました。

③ 社会的意義・今後の予定

本研究成果は、未解明であった RNA ウイルスのミトコンドリア DNA 放出機構を明らかにしただけでなく、細胞内の DNA センサーが RNA ウイルスの感染時にも重要な役割を果たしていることを示した重要な知見であると言えます。これまでの常識ではインフルエンザウイルスに代表される RNA ウイルスの感染防御には、細胞内の RNA センサーが重要な役割を果たしていると考えられてきましたが、今後は DNA センサーの役割についても考慮する必要があります。インフルエンザウイルスの感染によって放出されたミトコンドリア DNA が細胞内の DNA センサーを介してインターフェロン応答を誘導しているというこれらの知見は、インフルエンザワクチンの効果を高めるようなアジュバントの開発などに繋がると期待されます。さらに本研究成果はインフルエンザウイルスの NS1 タンパク質が宿主の自然免疫システムを回避するための新しい戦略を明らかにしたものであり、インフルエンザウイルスが効率よく増殖するメカニズムの解明やインフルエンザウイルスの病原性発現機構の解明にも役立つと期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Nature Communications*

論文タイトル：Influenza A virus M2 protein triggers mitochondrial DNA-mediated antiviral immune responses

著者：森山美優、小柴琢己、一戸猛志*

DOI 番号：10.1038/s41467-019-12632-5

6. 問い合わせ先：

<研究に関するお問い合わせ>

東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター ウイルス学分野
准教授 一戸 猛志 (イチノヘ タケシ)

<報道に関するお問い合わせ>

東京大学医科学研究所事務部管理課総務チーム

7. 用語解説

注 1) インターフェロン

細胞がウイルスや細菌などの異物を認識することにより産生されるサイトカイン。インターフェロンが産生されるとウイルス感染細胞だけでなくその周囲の細胞に作用して、細胞のタンパク質翻訳機能を低下させることなどによりウイルスが増殖しにくい環境を作り出す。

注 2) ミトコンドリア DNA

細胞内小器官であるミトコンドリア内にある DNA。ミトコンドリアを構成するタンパク質を作るための遺伝子情報が書き込まれている。ヒトミトコンドリアゲノムは約 16kb の環状の二本鎖 DNA で、ヒトの場合 1 細胞に数千コピーのミトコンドリア DNA が存在する。

注 3) M2 タンパク質

インフルエンザウイルスの増殖に必須のウイルスタンパク質である一方、ウイルスが細胞に感染したときの炎症反応を引き起こす原因となる。研究グループはこれまでにインフルエンザウイルスの M2 タンパク質が NLRP3 inflammasome 依存的な IL-1 β の分泌（炎症反応）に必要であることを明らかにしている。

【参考】2013 年 10 月 14 日プレスリリース「インフルエンザウイルス感染によって起こる炎症反応のメカニズムを解明」

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/ichinohe-lab/131016.pdf>

注 4) アジュバント

抗原（ワクチンなど）と混合して投与することにより、その抗原に対する免疫応答を増強させる物質の総称。水酸化アルミニウム（Alum）、死菌を含む完全フロイントアジュバント、合成二本鎖 RNA の poly(I:C)、CpG DNA などがアジュバントになり得る。

注 5) ミトコンドリア転写因子 A (TFAM)

ミトコンドリアの転写因子であると同時にミトコンドリア DNA に結合して巨大なミトコンドリア DNA をコンパクトに折りたたむ役割を持つ。

8. 添付資料：

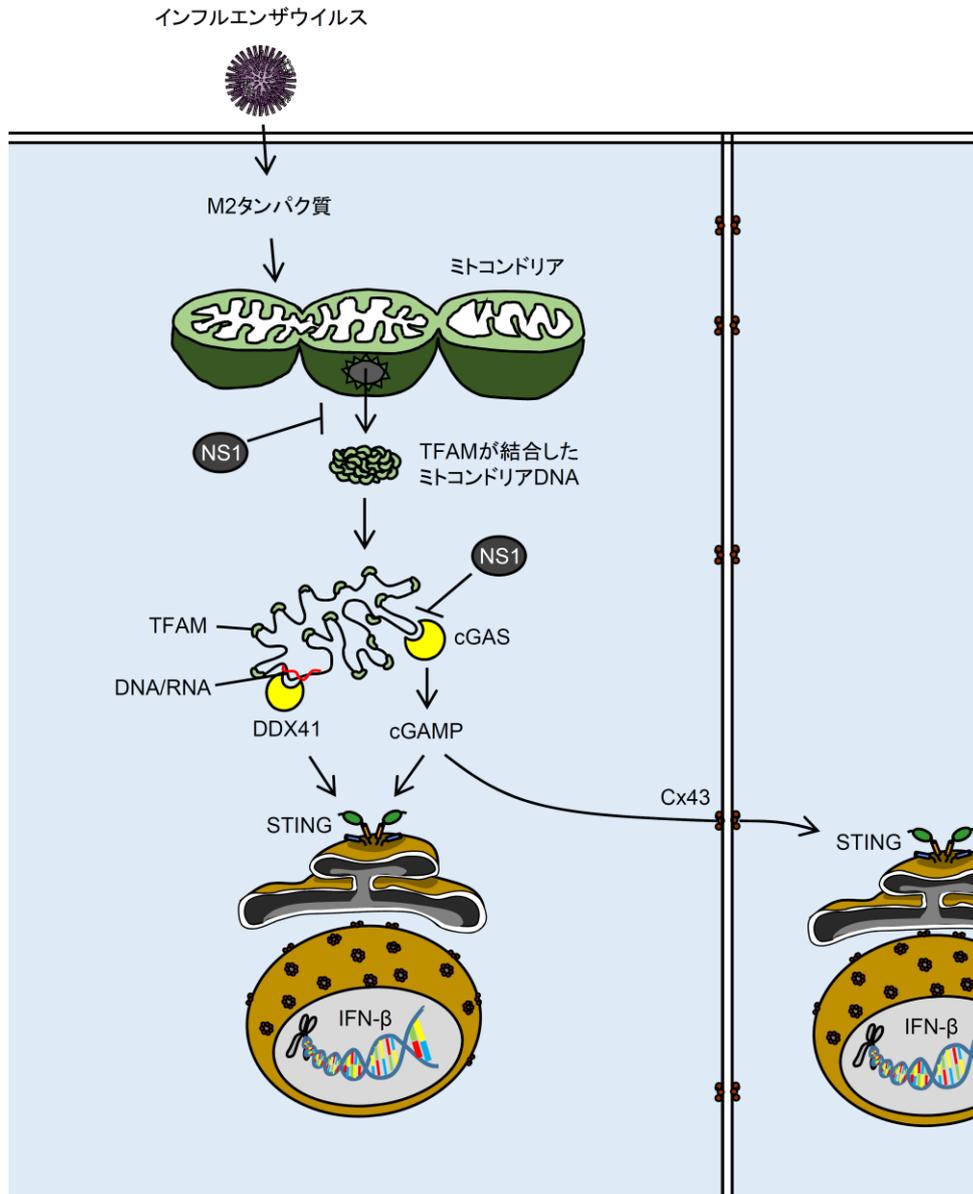


図. 本研究成果のまとめ

インフルエンザウイルスが細胞に感染すると、ウイルスの M2 タンパク質の作用により、ミトコンドリアにダメージを与えてミトコンドリア DNA が細胞質中へ放出される。細胞質中へ放出されたミトコンドリア DNA は TFAM が結合した状態であると考えられるものの、細胞内の DNA センサーである cGAS や DDX41 は細胞質中ミトコンドリア DNA または DNA/RNA ハイブリッド鎖を認識したあと、その下流のアダプタータンパク質である STING を介してインターフェロン β を誘導する。cGAS により合成された cGAMP はギャップ結合を構成する connexin 43 (Cx43) を介して隣接する細胞へ拡散され、STING 依存的なインターフェロン応答を増幅させている。インフルエンザウイルスの NS1 タンパク質は、ミトコンドリア DNA の放出そのものを抑制しているか、細胞質中に放出されたミトコンドリア DNA に結合することにより、ミトコンドリア DNA が宿主の DNA センサーから認識されるのを逃れている。