

タンパク質カルボキシル化による新規抗ウイルス応答制御機構の解析

北海道大学 遺伝子病制御研究所 准教授

岡崎 朋彦

[研究の背景]

ウイルス感染の初期応答として、細胞は I 型 IFN 産生と細胞死誘導という二つの応答を用いてウイルスに対抗する。これまでの研究では 2 つの抗ウイルス応答は細胞集団全体の応答として観察されることがほとんどで、あたかも同じ細胞で 2 つの応答が起きているかのように記述されてきた。しかしながら、我々は感染細胞中に 2 つの応答のうち、実はある一定の割合で「I 型 IFN 産生だけを行う細胞群」と「細胞死誘導だけを行う細胞群」が存在することを世界で初めて発見した(Okazaki et al., *Science Signaling*, 2015; *Inoue, *Okazaki et al., 投稿準備中, *同等貢献)。この使い分け機構により IFN 産生細胞が細胞死を回避し、十分な量の IFN が産生出来ると考えられる。

更に申請者は、使い分けの詳細なメカニズムを調べた結果、細胞内で働く必須の抗ウイルス応答分子 IPS-1 の Gla 化という珍しい翻訳後修飾を見出し、この Gla 化が血液凝固とは独立に IPS-1 の I 型 IFN 産生と細胞死誘導を切り替える可能性を見出した(Okazaki et al, submitted)。これまで GGCX による Gla 化基質は 20 余りの細胞外因子が知られているのみである。そこで本研究では、細胞内 Gla 化という非常に珍しい翻訳後修飾による IPS-1 の機能切り替えがウイルス感染防御に重要である可能性を検証することで、ビタミン K 依存的 Gla 化による抗ウイルス生体防御機構の解明を試みた。

[研究の成果]

・IPS-1 Gla 化がウイルス感染防御に重要か検証した

申請者は質量分析によりヒト IPS-1 の 4 残基(マウス IPS-1 は 3 残基)に Gla 化修飾が入ること、さらに IPS-1 のこれら Gla 化サイトの変異体(4A)の解析から IPS-1 の Gla 化が IPS-1 の I 型 IFN 誘導に必要であり、細胞死誘導能の抑制に必要である可能性を見出していた。しかしながら、IPS-1Gla 化による IFN 産生能と細胞死誘導能の切り替えがウイルス感染防御に重要であるかは明らかでなかった。そこで、IPS-1KO 細胞に対し野生型 IPS-1 または IPS-1 3A を発現させた後、水疱性口内炎ウイルス(VSV)を感染させてウイルスの増殖を評価した。すると、野生型 IPS-1 を発現する細胞に比べて 3A 発現細胞においては VSV の増殖が亢進していることが分かった。従って、IPS-1 のカルボキシル化がウイルス感染防御に重要である可能性が示唆された。

・Gla 化による IPS-1 の機能切り替え機構を調べた

申請者は Gla 化によって IPS-1 の結合因子が変化した結果、IPS-1 の下流応答が切り替わる可能性を考え、野生型 IPS-1(IFN 誘導能高、caspase 活性化能低)と IPS-1 4A 変異体(IFN 誘導能低、caspase 活性化能高)の結合因子を質量分析により網羅的に探索・比較を行った。その結果より、IPS-1 の機能切り替えの責任候補分子(ミトコンドリア局在の IFN 制御因子 NUDT21、細胞死誘導制御因子等)が多数得られた(Aoyama-Ishiwatari and Okazaki* et al., Journal of Immunology, 2021)。そこで得られた候補分子が IPS-1 の機能の切り替えに貢献するかを KO して検証した。NUDT21 については遺伝子破壊マウスの作成を試みたが、致死となり個体を得ることが出来なかった。現在 RNA 干渉法(RNAi)を用いて更なる解析を進めている。細胞死誘導制御因子についても KO 細胞の樹立を目指したが、致死となり細胞を得ることが出来なかった為に RNAi 法によりノックダウンした。すると、IPS-1 過剰発現による I 型 IFN の誘導には影響が無かった一方、caspase の活性化が抑制されることが分かった。また、細胞死誘導制御因子の過剰発現を行ったところ、IPS-1 による I 型 IFN 産生経路の活性化には影響が無かったが、caspase 活性化が亢進することが判明した。従って、カルボキシル化による IPS-1 の機能制御として、IPS-1 の結合因子の切り替えが起こる可能性が示唆された。

[今後の研究の見通し]

本研究は、ビタミン K の摂取がウイルス感染防御を高める可能性を示唆するものであり、新たな感染症予防方法につながることを期待できる。また、ビタミン K 競合阻害剤 warfarin は、脳梗塞、心筋梗塞等の「血栓症」の予防・治療に広く使用されているが、ウイルス感染症に対する作用は調べた限り報告されていない。本研究を通じて、ウイルス感染時には warfarin 等のビタミン K 競合阻害剤ではない他の直接経口抗凝固薬(DOAC)が有用であることが提案できる。更に、申請者は世界で初めて I 型 IFN 産生と細胞死誘導の使い分け機構を見出した(Okazaki et al., Science Sig., 2015)。I 型 IFN 産生と細胞死誘導の使い分け機構の解明により、将来的に抗ウイルス応答の使い分けを人為的に操作できる可能性がある。感染細胞の抗ウイルス応答の使い分けを人為的に制御することは、抗ウイルス応答が個体に与える悪影響を回避しながら、ウイルスを排除する治療方法となり得る。