

令和元年6月18日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19149

研究課題名(和文) 抗ウイルス応答の使い分け機構の解析

研究課題名(英文) Differential regulation of the antiviral responses

研究代表者

岡崎 朋彦 (Okazaki, Tomohiko)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教

研究者番号：50724598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々はウイルス複製を制限するI型インターフェロン(IFN)産生と、感染細胞除去を担う細胞死という二つの異なる応答を使い分ける機構を世界で初めて報告したが、その使い分け機構の分子的詳細については不明な点が多く残されていた。申請者は二つの応答制御に必須の分子IPS-1が翻訳後修飾を受けることを見出し、更に修飾がIPS-1のI型IFN産生能と細胞死誘導能を切り替える可能性を見出した。更に本研究において、ウイルス感染細胞がIPS-1の翻訳後修飾によりI型IFN産生と細胞死誘導を使い分けることで、宿主の恒常性維持とウイルス排除を両立するという可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗ウイルス応答の使い分け機構を解明できたことで、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生まれた。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の開発の基盤となり得る。

研究成果の概要(英文)：I previously reported that type 1 interferon (IFN) production and apoptosis were differentially regulated in response to viral infection. However, the underlying molecular mechanism was remained largely unclear. In this study, we found that post-translational modification of IPS-1 switched its response from caspase activation to IFN production after viral infection.

研究分野：免疫学

キーワード：インターフェロン アポトーシス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 高等哺乳動物は、ウイルスの感染の初期においては抗ウイルス作用のある I 型 IFN を産生したり、あるいは細胞死を誘導したりすることでウイルスに対抗する。具体的には、I 型 IFN が細胞にウイルス複製を制限する活性を与え「抗ウイルス状態」へと導く一方、感染細胞が細胞死を誘導することで周囲への感染拡大を抑制している。これら二つの抗ウイルス応答はウイルス排除に貢献するため感染個体にとって有益である一方、皮肉にも状況によっては生体にダメージを与え有害となるという「矛盾」を抱えていることも分かっている。例えば、細胞死は組織の傷害を引き起こす可能性があり、また I 型 IFN 産生は造血幹細胞を枯渇させる可能性がある。しかしながら、ウイルスに感染した細胞がどのように「矛盾」を解消しているか(感染した生体が恒常性を維持しながら効率的にウイルスを排除しているか)、はこれまでほとんど解明されていなかった。

(2) 我々は最近、MAPKKK の ASK1 と ASK2 がウイルス感染に対する I 型 IFN 産生と細胞死誘導を使い分けることを報告した(Okazaki et al., Science Signaling, 2015)。重要なことに、ASK2 はウイルス感染による I 型 IFN 産生には貢献しないが、細胞死誘導を活性化するため、ASK2 を細胞に過剰発現するとウイルス感染による細胞死の誘導が選択的に亢進する。従ってウイルスに感染した細胞が状況に応じて ASK2 を介して二つの応答を使い分けることで、こうむる利益と不利益のバランスを保つことが可能となり(感染した生体が恒常性を維持しながら効率的にウイルスを排除できるようになり)理に適う。しかしながら、感染細胞において ASK2 がどのようなコンテキスト、どのような機構でこの使い分けを行っているかは分かっていた。

### 2. 研究の目的

ASK2 によって抗ウイルス応答がどのように使い分けられているのかを明らかにする。また、この使い分けが宿主の抗ウイルス防御に貢献するか調べる。

### 3. 研究の方法

(1) IPS-1 が ASK2 によってリン酸化制御を受ける可能性を考えその可能性を検証した。さらに、ASK2 による IPS-1 のリン酸化部位決定を目指した。

(2) IPS-1 のリン酸化によって IPS-1 の他の翻訳後修飾が変化する可能性を考えその可能性を検証した。

### 4. 研究成果

(1) IPS-1 と ASK2 を細胞に共発現すると、ウエスタンブロッティングにおける IPS-1 の泳動度が高分子量側へシフトすることが分かったことから、IPS-1 が ASK2 によってリン酸化修飾を受けている可能性が示唆された。そこで同じ条件において、細胞抽出液をフォスファターゼで処理したところ IPS-1 のバンドシフトは観察されなくなったことから、IPS-1 が ASK2 の下流でリン酸化制御を受ける可能性が支持された。次に我々は ASK2 が IPS-1 を直接リン酸化する可能性を考え、IPS-1 上に存在する ASK ファミリーのリン酸化コンセンサス配列の変異を導入したところ、IPS-1 のバンドシフトが一部消失することも判明した。

(2) ASK2 によって変化する IPS-1 の他の翻訳後修飾を探索するため、ASK2 によってシフトする IPS-1 のバンドを単離精製し質量分析法(MS)を行った結果、IPS-1 の新規翻訳後修飾を複数種類同定した。そのうちの一つに注目し修飾部位に変異を導入したところ、IPS-1 の I 型 IFN 誘導能が減少し、細胞死誘導能が亢進することがわかった。更に我々は、修飾酵素をノックアウトしたマウスの解析も行った。この修飾酵素のノックアウトマウスはウイルス感染に対する脆弱性が上昇しており、ウイルス量の上昇と生存率が減少することが判明した。以上の結果より、IPS-1 の翻訳後修飾によって I 型 IFN の産生と細胞死誘導が使い分けられており、この使い分け制御機構がウイルス感染時の恒常性維持に貢献している可能性が示唆された(図.1)。

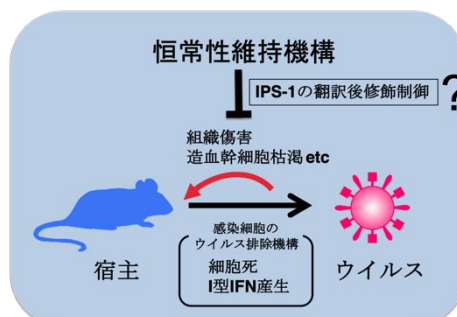


図1. 宿主の抗ウイルス応答と恒常性維持機構  
本研究によって、IPS-1 の翻訳後修飾によりウイルス排除と恒常性維持が両立される可能性が示された

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Tomohiko Okazaki

ASK family in infection and Inflammatory disease

Advances in Biological Regulation., 2017/10/14 査読あり

[学会発表] (計 7 件)

1). 岡崎朋彦、井上萌、後藤由季子

A division of labour for the type I interferon and apoptosis induction after viral infection

第 47 回日本免疫学会学術集会、福岡国際会議場(博多)、2018/12/10-12

2). 岡崎朋彦、井上萌、後藤由季子

A division of labour for the type I interferon and apoptosis induction after viral infection

TOLL2018、ポルト、2018/6/6-9

3). 岡崎朋彦、後藤由季子:

ビタミン K 依存性カルボキシラーゼ GGCX による脳内ウイルス感染時の恒常性維持機構の解析

ConBio2017、2017/12/6-9、神戸ポートアイランド(兵庫県)

4). Tomohiko Okazaki, Yukiko Gotoh

Differential control of interferon and apoptotic responses to viral infection

The 4<sup>th</sup> Symposium of Max Planck-The University of Tokyo Center for Integrative Inflammation (Tokyo), November. 2017

5). Tomohiko Okazaki, Yukiko Gotoh

Vitamin K-dependent  $\gamma$ -glutamyl carboxylase (GGCX) switches MAVS-mediated immune responses and protects against viral infection of the central nervous system

Cell Symposia, 2017. 9.17-19, Sitges, Spain

6). 岡崎朋彦、武地佳菜、後藤由季子

Modulation of the antiviral adaptor IPS-1-mediated innate immune responses by carboxylation

第 45 回日本免疫学会学術集会、2016/12/5-7

7). Tomohiko Okazaki, Kana Takechi, and Yukiko Gotoh

Modulation of the antiviral adaptor IPS-1-mediated innate immune responses by carboxylation

Gordon Research Conferences 'Immunity in Homeostasis, Disease and Therapy', 2016, 6, 20-24, Barga, Italy

[図書] (計 2 件)

1). 岡崎朋彦

「ウイルス感染細胞がたどる生死の分かれ道」

「生命誌 -ゆらぐ-」 vol. 91, 2017

2). 青山幸恵子、後藤由季子、岡崎朋彦

「ウイルス感染に対するⅠ型インターフェロン産生と細胞死誘導の使い分け機構の解析」  
臨床免疫・アレルギー科 68 巻第一号, p57-63, 科学評論社 2017

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。