

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和2（2020）年度 研究進捗評価用〕

平成29年度採択分
令和2年3月31日現在

重症ウイルス感染症における高次エピゲノム作動原理の解明と
新規治療基盤の確立

Identification of higher-order-epigenetic modification
machineries and development of potential novel therapeutics in
severe virus infection

課題番号：17H06179

今井 由美子 (IMAI, YUMIKO)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 ワクチン・アジュバント
研究センター・プロジェクトリーダー



研究の概要（4行以内）

本研究ではウイルス感染に対する宿主クロマチンの3D構造（高次エピゲノム）の空時間的な変動動態を体系的に解析し、ウイルス感染症の分子病態・重症化機構を解明し、これに基づいた重症化を阻止する先制医療や新しい治療法の確立を目指す。

研究分野：ウイルス学・分子生物学

キーワード：ウイルス、クロマチン、重症感染症

1. 研究開始当初の背景

近年、H5N1鳥インフルエンザや新型コロナウイルス感染症(COVID-19)などの新興呼吸器ウイルス感染症が発生している。これらの感染症が重症化すると、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)や多臓器不全などの致命的病態が引き起こされ、集中治療室(ICU)において人工呼吸などの集中治療が必要となるが、今のところ救命に繋がる有効な治療法がない。またこれらの感染症は、高齢者、あるいは慢性肺疾患、やがんなどの基礎疾患のあるヒトで重症化することがわかっているが、そのメカニズムは十分解明されていない。

ところで、宿主細胞の核内では、クロマチンはトポロジカル関連ドメイン(TAD)やループといった3次元(3D)構造をとっている。さらに最近このクロマチン3D構造は外的要因によってダイナミックに変化することが明らかとなり、クロマチン3D構造の空時間的動態を明らかにすることを目的とした国際プロジェクト「4Dヌクレオーム」が発足した。しかしながら、インフルエンザウイルス感染によって、どのように宿主クロマチンの3D構造が空時間的に変動して、生命機能情報へと転換され、ウイルス感染症の病態の形成に関わっているか、その全容は未解明である。

2. 研究の目的

本研究ではインフルエンザウイルス感染に対する宿主クロマチンの3D構造（高次エピゲノム）の空時間的な変動動態を体系的に解析し、ウイルス感染症の分子病態・重症化機構を解明し、これに基づいた重症化を阻止する先制医療や新しい治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、インフルエンザウイルスを用いて、①ヒストン修飾情報(ChIPseqなど)や高次エピゲノム情報(4C-seq, Hi-C, ATAC-seq, Hi-Cなど)ならびに②ウイルスタンパク質と相互作用する核内タンパク質情報を時系列で取得して、ウイルス感染における高次エピゲノム応答の情報プラットフォームを構築する。これらを基に、③遺伝子改変の細胞、マウス、変異ウイルスなどを用いて、高次エピゲノムの空時間的変遷が病態の形成につながるメカニズムを解析し、④重症化予測を通して重症化インフルエンザの早期診断・先制医療への応用の可能性を探る。また⑤ウイルスタンパク質・宿主エピゲノムタンパク質複合体の結晶構造解析、⑥ウイルス感染に伴う高次エピゲノム変遷動態の数理モデル化を行い、さらに⑦エピゲノム修飾を制御する化合物のライブラリーを用いて抗インフル

エンザ薬候補化合物の探索を行い、新規治療薬開発の可能性を探る。

4. これまでの成果

2017年度はインフルエンザウイルスH1N1(PR8)株を用いて、培養細胞感染系で、クロマチン免疫沈降(ChIP)、染色体高次構造に関する4C, Hi-Cなどの解析を行い、得られたデータを統合的に分析するパイプラインを確立した。また遺伝子欠損マウスから単離した細胞を用いた、高次エピゲノム解析系、免疫反応の解析系を確立した。さらに、培養感染細胞系を用いて、エピゲノム関連化合物のライブラリーを用いて、インフルエンザの増殖をスクリーニングするアッセイ系を立ち上げ、インフルエンザウイルスの増殖を強く抑制する複数の化合物を見出した。

2018年度は、前年度の研究成果を発展させて、インフルエンザウイルス感染に伴った宿主細胞のヒストン修飾変化を質量分析法で解析した。その結果、ヘテロクロマチンに結合している抑制性のヒストンメチル化修飾が感染に伴って変化することを見出した。それを基に、ウイルス感染によるヒストン修飾変化に関わるヒストンメチル化酵素を同定した。さらに質量分析法で同酵素が結合する核内タンパク質ならびにウイルスタンパク質を同定した。

2019年度は、前年度の研究成果を発展させて、ウイルス感染に伴った高次エピゲノム変化を誘導する分子メカニズムに関して、染色体構造タンパク質の役割を検討した。さらに、がんや慢性呼吸器疾患といった宿主側の因子が、インフルエンザウイルス感染症の病態に及ぼす影響を高次エピゲノム変化の観点から解析した。またこれまでにエピゲノム関連化合物のライブラリーを用いたスクリーニングで同定したウイルスの増殖を抑える化合物に関して、マウス感染モデルを用いて *in vivo*での効果を検証した。

5. 今後の計画

本研究でこれまでに同定したヒストンメチル化酵素に関して、ウイルスタンパク質との相互作用が病態形成にかかわるクロマチン3D構造変化の起点になっているので、同相互作用は抗インフルエンザ薬の創薬標的になりうる。今後研究協力者と連携して結晶構造解析を進める。それを基に *in silico*でこれらの相互作用を阻害するような化合物のスクリーニングを進め、抗ウイルス薬開発の可能性を探る。また、本研究においてこれまでにインフルエンザの病態形成に関わる宿主細胞のヒストン修飾変化はがんや慢性肺疾患を有するヒトでは既に変化が見られていることが分かった。今後そのようなエピゲノム変化がどのようなメカニズムでウイルス感染症の重症化に関与するかを明らかにし、重症化を予測するバイオマーカーとしての可能性を検討する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Minato T, Imai Y, Kuba K, et al. B38-CAP is a bacteria-derived ACE2-like enzyme that suppresses hypertension and cardiac dysfunction. *Nature Communications*. 11(1):1058. 2020 (doi: 10.1038/s41467-020-14867-z.) (22名中20番目)
- Momota M, Imai Y, et al. ZBP1 governs the inflammasome-independent IL-1 α and neutrophil inflammation that play a dual role in anti-influenza virus immunity. *Int Immunol*. 32 (3) : 203-212. 2019 (doi: 10.1093/intimm/dxz070.) (10名中7番目)
- Koizumi Y, Imai Y, Kuba K, et al. Genome-Scale CRISPR/Cas9 Screening Reveals Squalene Epoxidase as a Susceptibility Factor for Cytotoxicity of Malformin A1. *Chembiochem*. 20 (12) : 1563-1568. 2019 (doi: 10.1002/cbic.201800769) (9名中7番目)
- Sato T, Imai Y, Kuba K, et al. Loss of Apelin Augments Angiotensin II-Induced Cardiac Dysfunction and Pathological Remodeling. *Int J Mol Sci*. 20(2). pii: E239. 2019 (doi:10.3390/ijms20020239) (7名中6番目)
- Fujiwara S, Kuba K, *Imai Y, et al. Pulmonary phagocyte-derived NPY controls the pathology of severe influenza virus infection. *Nat Microbiol*. 4(2):258-268. 2018 (doi: 10.1038/s41564-018-0289-1) (20名中20番目)
- Koizumi Y, Imai Y, Kuba K, et al. Involvement of RSK1 activation in malformin-enhanced cellular fibrinolytic activity. *Sci Rep*. 8(1):5472. 2018 (doi: 10.1038/s41598-018-23745-0) (10名中7番目)
- Yamaguchi T, Imai Y, Kuba K, et al. The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function. *Sci Signal*. 11(516). pii: eaan3638. 2018 (doi: 10.1126/scisignal.aan3638) (25名中24番目)

7. ホームページ等

<https://www.nibiohn.go.jp/regulation-intractable-infectious-diseases/index.html>