

令和 3 年 4 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16664

研究課題名（和文）ヒトサイトメガロウイルス感染に対する新規自然免疫シグナル調節機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of regulatory mechanism for antiviral innate immune response against human cytomegalovirus

研究代表者

山田 大翔 (Taisho, Yamada)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教

研究者番号：10779333

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：世界の殆どの人が感染しており、とくに免疫不全の患者で致死的な感染症を引き起こすことが臨床的に問題となっているヒトサイトメガロウイルス（HCMV）に対する宿主の自然免疫応答とその調節機構を探索した。その結果、HCMV粒子中に存在する構造タンパク質が宿主のセンサー分子に認識されることでインターフェロンを誘導する免疫シグナル経路が活性化することを見出した。さらにそれに加え、その構造タンパク質が宿主のキナーゼによりリン酸化されると、その免疫応答が減少することが明らかとなった。この知見から、このキナーゼ活性を阻害することは、HCMV感染症を制御するための有用なアプローチとなる可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、いまだほとんど明らかにされていないヒトサイトメガロウイルス（HCMV）感染時に活性化される自然免疫応答を明らかにすること目的とした。その結果、これまでに知られていない、ウイルス由来のタンパク質を認識するという自然免疫応答活性化の新たな分子機構を見出した。さらにその免疫応答の抑制因子としてあるキナーゼを同定し、そのキナーゼを抑制することでHCMV増殖が抑制された。HCMV感染症に対してこれまで抗ウイルス薬で治療されてきたが、耐性ウイルスの存在も懸念されており、本研究で見出したキナーゼに着目した免疫学的手法という、宿主タンパク質を標的とするという新たな感染症克服の可能性を提示した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to identify the host innate immune response and its regulatory mechanism against human cytomegalovirus (HCMV), which is infected by most people in the world and is clinically problematic to cause fatal infections, especially in immunocompromised patients. As a result, it was found that HCMV infection is recognized through the detection of a structural protein present in the HCMV particles by a host sensor molecule. In addition, it was also revealed that the structural protein-mediated immune response was reduced by the host kinase via the phosphorylation of the structural protein. This finding suggests that inhibition of this kinase activity may be a useful approach for controlling HCMV infection.

研究分野：自然免疫

キーワード：ヒトサイトメガロウイルス

1. 研究開始当初の背景

微生物が感染した際に、最前線において微生物を認識する機構は感染防御応答を惹起する上で最も初めの重要なプロセスである。その認識は、糖や脂質、核酸といった微生物特有の保存された構成分子の構造（pattern-associated molecular patterns；PAMPs）を宿主の遺伝子にコードされている受容体（pattern recognition receptors；PRRs）を介して行われる。その後、下流にシグナルが伝達されることで、I 型 IFNs や各種サイトカインの遺伝子発現が誘導され、抗ウイルス効果を発揮する。ウイルス感染においては、ウイルス由来の核酸が主要な PAMPs となることが知られている。

一方、HCMV は、健常人に広く潜伏感染しながら、とくに免疫不全の患者で致死的な感染症を引き起こす DNA ウイルスであり、実際に重篤な肺炎や網膜炎、肝炎などの原因となる、臨床的に注意すべき日和見病原体として知られている。現在、HCMV 感染症の治療には、長期にわたる抗 HCMV 薬の投与が必要であるが、一方で白血球・好中球の減少などの副作用や薬物耐性株の出現が問題視されており、HCMV 感染症の克服には免疫学的なアプローチも重要であると考えられるが、しかしながら、その自然免疫認識機構についてはまだ十分に明らかにされていない。

そこで、HCMV に対する自然免疫センサー及びシグナル経路の解析を行った結果、予想された核酸（HCMV ゲノム DNA）ではなく、HCMV のある構造タンパク質が細胞内で認識されて I 型 IFNs が誘導される新規シグナル活性化機構を見出した。さらにこの研究を発展させるため、この構造タンパク質は豊富にリン酸化修飾されていることに着目し、そのキナーゼの探索を行ったところ、ある宿主キナーゼが pp65 をリン酸化することで IFN 応答を抑制していることが示唆される結果が得られている。

2. 研究の目的

これらの独自の知見を基に、ウイルス構造タンパク質という HCMV 特異的な因子に対する自然免疫応答を抑制する宿主キナーゼについて詳細に検討することで、その宿主キナーゼを阻害することによる、HCMV 感染細胞特異的に自然免疫を活性化させるという新たなコンセプトによる感染制御の可能性を提示し、ひいては副作用の少ない治療への応用に発展する可能性を探りたい。

3. 研究の方法

HCMV 由来の構造タンパク質に対する自然免疫応答を抑制することが見出された、宿主キナーゼの分子機構を詳細に検討し、それを制御することによる HCMV 排除への応用を視野に入れた解析を行う。具体的には、以下の細胞レベルや *in vitro* 系、マウスの個体レベルの実験を行うことで明らかにした。

細胞レベル

HCMV の標的細胞として考えられるヒト胎児肺線維芽細胞（HELFs）に宿主キナーゼの阻害剤を処理すると、構造タンパク質による I 型 IFNs の誘導が増強されたことが qRT-PCR や ELISA で確認された。また、これと一致して、HCMV ウイルス量の減少が TCID₅₀ アッセイで確認された。また、このウイルス構造タンパク質を欠損させた HCMV の増殖に対しては、このキナーゼ阻害剤は影響がなかったことから、この阻害剤はウイルス構造タンパク質依存的に作用していることが示された。また、これらの現象は、ヒト肝細胞でも認められた。

in vitro 系

実際にキナーゼが直接的にウイルス構造タンパク質をリン酸化しているかをリコンビナントタンパク質を作成して解析した結果、その直接的な会合とリン酸化が免疫沈降法やウエスタンブロット法で確認された。さらに、そのどのアミノ酸残基がリン酸化されるかもアラニン変異体を作成した実験により同定された。このアラニン変異体を細胞に導入すると、誘導される自然免疫応答の増強が見られた。

マウスの個体レベル

ヒト肝キメラマウスを使用した。ウイルス構造タンパク質を欠損させた HCMV の増殖は、野生型と比べ、IFN 応答の減少とウイルス増殖能の亢進が認められた。そこでキナーゼ阻害剤をマウスに処理すると HCMV に対する IFN 応答の増強が見られ、それと一致してウイルス量が減少した。これらの結果より、個体レベルにおいても HCMV 対

する宿主自然免疫応答を促進させるための手法としての、キナーゼ阻害剤の有用性について確認できた。

4. 研究成果

本研究では、いまだほとんど明らかにされていないヒトサイトメガロウイルス（HCMV）感染時に活性化される自然免疫応答を明らかにすること目的とした。その結果、これまでに知られていない、ウイルス由来のタンパク質を認識するという自然免疫応答活性化の新たな分子機構を見出した。さらにその免疫応答の抑制因子としてあるキナーゼを同定し、そのキナーゼを抑制することで HCMV 増殖が抑制された。HCMV 感染症に対してこれまで抗ウイルス薬で治療されてきたが、耐性ウイルスの存在も懸念されており、本研究で見出したキナーゼに着目した免疫学的な手法という、宿主タンパク質を標的とするという新たな感染症克服の可能性を提示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yamada T., and Takaoka A.
2. 発表標題 IFI16 is an innate sensor for human cytomegalovirus
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------