

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16665

研究課題名(和文) インフルエンザウイルス感染による細胞死の運命決定機構の解析

研究課題名(英文) Molecular mechanism of cell death pathways induced by influenza virus infection

研究代表者

リー サンジュン (Lee, Sangjoon)

筑波大学・医学医療系・客員研究員

研究者番号：90837494

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)：インフルエンザウイルス感染にตอบสนองして、アポトーシスによる感染細胞の排除、およびIL-1 $\beta$ の産生を伴った細胞死であるパイロトーシスによって炎症応答を誘導し、感染早期での生体防御を惹起する。一方、これらの細胞死経路が選択されるメカニズムは不明である。本研究では、ミトコンドリアに局在するアポトーシス抑制分子であるBcl-xLが発現することで、アポトーシス経路からパイロトーシス経路に細胞死シグナルがスイッチされることを明らかにした。また、I型IFNにตอบสนองして発現するMxAが病原体センサー分子として機能することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インフルエンザウイルスは気道上皮細胞に初感染する。それに対し、気道上皮細胞は物理的なバリアとして機能するだけでなく、アポトーシス、およびパイロトーシスを誘導することで感染早期での生体防御を惹起する。一方、これらのシグナル経路は相互排他的であり、各細胞死シグナル間でクロストークがあると推測されるが、その詳細は不明であった。本研究により、ウイルス感染に対するプログラム細胞死による生体防御応答の重要性を明らかにすることができ、これを応用することで感染病態の制御へと繋げていくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：In response to influenza virus infection, the elimination of infected cells by apoptosis and the induction of an inflammatory response by pyroptosis, which is cell death accompanied by the production of IL-1 $\beta$ , elicit biological defense in the early stages of infection. On the other hand, the mechanism by which these cell death pathways are selected is unknown. In this study, we found that the expression of Bcl-xL, a mitochondria-localized apoptosis suppressor protein, switches the cell death signal from the apoptotic pathway to the pyroptic pathway. We also found that MxA, which is expressed in response to type I IFN, functions as a pathogen sensor molecule for influenza virus infection.

研究分野：ウイルス学

キーワード：パイロトーシス アポトーシス インフルエンザ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

インフルエンザウイルスは気道上皮細胞に初感染する。それに対し、気道上皮細胞は物理的なバリアとして機能するだけでなく、アポトーシスによる感染細胞の排除、および炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  の産生を伴った細胞死であるパイロトーシスによって炎症応答を誘導し、感染早期での生体防御を惹起する。インフルエンザウイルス感染で誘導されるアポトーシスは Caspase-3 依存적であるのに対し、パイロトーシスは Caspase-1 依存적であり、下流の細胞死を誘導するシグナル経路・因子は異なる。一方、これらのシグナル経路は相互排他的であり、ウイルス感染によってアポトーシスとパイロトーシスが同時に活性化されることはなく、各細胞死シグナル間でクロストークがあると推測されるが、その詳細は不明である。また、感染に応答して細胞死の経路を選択する分子機構も不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、(1)インフルエンザウイルス感染によって誘導される細胞死経路の決定機構と、(2)気道上皮細胞特異的なパイロトーシスの誘導に必須な宿主因子の同定をめざす。

### 3. 研究の方法

#### (1)インフルエンザウイルス感染によって誘導される細胞死経路の決定機構

インフルエンザウイルスの細胞へのエントリー効率は高く、ウイルスタンパク質の発現時期や発現量に、各細胞間で大きなばらつきは観察されない。しかし、アポトーシスを引き起こす細胞と、アポトーシスを回避してパイロトーシスへと移行する細胞は、ほぼ同程度観察されており、各細胞死経路の決定機構は不明である。そこで、各細胞死経路の宿主要因を明らかにする。

#### (2)気道上皮細胞特異的なパイロトーシスの誘導に必須な因子群の同定

初代気道上皮細胞に、ウイルスを感染させるだけではインフラマソーム複合体は形成されず、I型インターフェロン(IFN)シグナルが必要である。従って、IFN 応答性遺伝子の発現、もしくは I 型 IFN シグナル下流の翻訳後修飾が気道上皮細胞におけるインフラマソーム複合体の活性化およびパイロトーシスの誘導には必要であることが示唆される。

### 4. 研究成果

#### (1)インフルエンザウイルス感染によって誘導される細胞死経路の決定機構

これまでに、ウイルス感染に応答して、ミトコンドリアに局在するアポトーシス抑制分子である Bcl-xL が発現することで、アポトーシス経路からパイロトーシス経路に細胞死シグナルがスイッチされることを明らかにした。そこで次に、呼吸鎖を機能欠損したミトコンドリアをもつ細胞株を用いて、インフルエンザウイルス感染を行ったところ、アポトーシス非依存的であり、且つパイロトーシスにも非依存的に細胞死が誘導されることを明らかにした。個体レベルでの表現型を明らかにするため、ミトコンドリアを機能欠損したマウス(ミトマウス)を用いた病態解析の結果、ウイルス感染に応答した強い炎症像が認められた。

#### (2)気道上皮細胞特異的なパイロトーシスの誘導に必須な因子群の同定

I型 IFN に応答して発現するダイナミン様 GTPase であり、リング状のオリゴマーを形成する MxA が病原体センサー分子として機能し、アダプター分子である ASC をリクルートすることで、インフラマソーム複合体形成を制御することを明らかにした。精製した組換えタンパク質を用いた生化学的な実験により、MxA は ASC の PYD ドメインを認識して、直接結合することを明らかにした。MxA はウイルスゲノムタンパク質である NP を認識することを明らかにし、季節性インフルエンザでは、NP に MxA に対する逃避変異が導入されることで、生体防御応答から逃れて、感染伝播することを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Lee SangJoon, Ishitsuka Akari, Noguchi Masayuki, Hirohama Mikako, Fujiyasu Yuji, Petric Philipp P., Schwemmler Martin, Staeheli Peter, Nagata Kyosuke, Kawaguchi Atsushi	4. 巻 4
2. 論文標題 Influenza restriction factor MxA functions as inflammasome sensor in the respiratory epithelium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciimmunol.aau4643	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Akari Ishitsuka, Sanjoon Lee, Atsushi Kawaguchi
2. 発表標題 MxA confers antiviral activity against influenza virus infection via inflammasome complex formation
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sanjoon Lee, Kyosuke Nagata, Atsushi Kawaguchi
2. 発表標題 MxA inflammasome restricts the host range of influenza A viruses in respiratory epithelium
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
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			
ドイツ	フライブルグ大学			