

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：82508

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15476

研究課題名(和文) 病原体センサーSTINGの活性を制御するT細胞特有の脂質スイッチシステムの解明

研究課題名(英文) A T cell-specific lipid switch system regulates the activity of pathogen sensor STING

研究代表者

菅野 敏生 (KANNO, TOSHIO)

公益財団法人かずさDNA研究所・先端研究開発部・特任研究員

研究者番号：90849291

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに、T細胞の脂質代謝経路の制御により、抗ウイルス応答が誘導されることを明らかにした。本研究では「脂質代謝による抗ウイルス応答の誘導機構の解明」を目的としている。進捗・結果は次の通りである。1: CRISPR/Cas9による遺伝子編集および高精度リポミクス解析を用いて、抗ウイルス応答の誘導には、一価の不飽和脂肪酸の欠乏が大事であることがわかった。2: 脂質代謝の制御により、細胞内ウイルスセンサーSTINGを活性化するcGAMPが増大することがわかった。3: 項目1で同定された一価不飽和脂肪酸の合成酵素の阻害剤が、インフルエンザウイルス感染へのマウスの生存率を改善することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

I型IFNは抗ウイルス応答に重要なサイトカインであり、自然免疫系の細胞より多く産生される。今回我々が見つけた現象として、脂肪酸代謝の制御により獲得免疫系のCD4 T細胞からI型IFNが産生されることを新たに見つけることができた。また我々は、ウイルスは自身を複製するのに宿主の脂肪酸を利用することにも着目している。そのため、究極的には、本研究結果をさらに発展させることで、脂肪酸代謝の調節により、I型IFNを高産生するT細胞の誘導を促すとともに、ウイルスの複製に必要な脂肪酸を断つ、生体に二重の作用を及ぼす新規抗ウイルス薬の開発ができると考えている。

研究成果の概要(英文)：We have previously shown that regulation of lipid metabolic pathways activated anti-viral responses in CD4 T cells. The purpose of this research is to elucidate the mechanism of lipid metabolism-induced anti-viral response. The progress and results are as follows.

1: Using CRISPR/Cas9 gene editing and high-precision lipidomics analysis, we found that suppression of monounsaturated fatty acids biosynthesis is essential for the induction of anti-viral responses. 2: Regulation of lipid metabolism increases the level of cGAMP, which activates the intracellular viral sensor STING. 3: Inhibitors of monounsaturated fatty acid synthase improve survival rate in mice infected with influenza virus.

研究分野：免疫学

キーワード：CD4 T細胞 脂質代謝 抗ウイルス応答 SCD2 STING cGAMP インフルエンザウイルス 免疫学

## 1. 研究開始当初の背景

ウイルスなどの病原体は生体に侵入すると自然免疫応答が働き、活性化した免疫細胞から IFN をはじめとした抗ウイルス性サイトカインが産生されることで生体防御反応が開始される。抗原の排除後、異物を認識する一部の免疫細胞が生体内に残存することで、二度目の抗原が侵入した時に、迅速に活性化する獲得免疫応答が構築される。このようにウイルスに対する生体免疫の一端は解明されているが、昨今の新型コロナウイルスを含め、ウイルス感染症の多くには未だ有効な治療薬が少ない。

ここ数年間の研究にて、T 細胞は分化段階に応じて、それぞれ全く異なる代謝経路を使用していることが解明されており、その機能・特性における代謝の重要性が論じられている。事実、T 細胞分化に対する代謝経路の一端が明らかになりつつあり、代謝経路を標的としたがん細胞に対する新たな治療法の方向性は示されている。このような背景の中、我々は T 細胞機能と脂質代謝の関連を強く示唆する研究を継続して行っている。そうした研究を行う中で、我々はウイルス感染時に免疫システムの司令塔である T 細胞の脂質合成が低下すること、また人為的に T 細胞の脂質代謝をコントロールすることで劇的に抗ウイルス応答を上昇させる新たな知見を見出した。これらの予備的知見をもとに、「免疫システム-脂質代謝連関」を基軸とした抗ウイルス応答メカニズムを解明する本研究案を着想した。興味深いことに、脂質代謝調節による抗ウイルス応答には、非自己の核酸を認識し、活性化する病原体センサーの STING が関与することが示されている。これらの知見は、T 細胞には、ウイルス感染をより鋭敏に察知するため STING を活性化させる「脂質スイッチ」が備わっていることを示唆している。そこで本申請では、抗ウイルス活性を制御する T 細胞特有の脂質スイッチシステムの全容を解明し、脂質代謝に着目したウイルス予防や効果的なワクチン・抗ウイルス薬の開発を目指し、研究を行う。

## 2. 研究の目的

本研究では脂質代謝に焦点をあて、抗ウイルス性 T 細胞を制御する脂質スイッチシステムの重要性を解明し、将来的には脂質に着目したウイルス感染予防や効果的な抗ウイルス薬の開発を目指す。これまでに、獲得免疫システムにおける STING の活性化に関する脂質代謝の役割を明らかにした研究は皆無であり、STING の制御メカニズムを脂質代謝という新たな観点から取り組み、その分子作用点を解き明かす本提案は新規性が高いと言える。また、我々が発見した現象の優れている点の一つとして T 細胞にも関わらず、抗ウイルス活性を発揮するのに抗原特異性を必要としない(ポリクローナル)ことが挙げられる。風邪をひきおこす主なウイルスとして、コロナウイルス、RS ウイルス、アデノウイルスなどがあるが、これらすべてに対応可能な抗ウイルス T 細胞を簡単に誘導することができる。すなわち究極的に言うと本研究が完遂し、T 細胞の抗ウイルス活性を劇的に高める脂質スイッチが同定され食用油などの製品化へと進めていくことで、風邪を極端にひきにくくなる夢のような予防薬(食品)の開発につながることを期待される。さらに T 細胞、特に CD4 T 細胞自体の抗ウイルス活性を増強できるということは、CD4 T 細胞に感染し、免疫不全を起こす HIV に対して最も強力なツールとなることが考えられる。抗 HIV 薬はウイルス標的薬として第一線で活躍する一方、未だウイルスの完全な駆逐は困難であり、多くの課題を抱えている。CD4 T 細胞の「脂質-STING」経路を利用することで、抗ウイルス応答を増強する I 型 IFN 及び HIV の複製に不可欠な脂質の両方に作用することで、抗ウイルス応答に寄与することが期待できる。

## 3. 研究の方法

本研究計画では以下に示す 3 つの研究内容を柱として研究を順序立てて推進する。

(1) : T 細胞の抗ウイルス活性を高める責任酵素・脂質の同定

申請者は gRNA-Cas9 複合体を直接エレクトロポレーションすることで、プライマリー T 細胞において効率よく標的遺伝子を欠損させるシステムを構築した。T 細胞の抗ウイルス応答を規定する脂質およびその合成酵素を同定すべく、ACC1 より下流の酵素 (Fasn, Scd, Fads を含む脂質修飾酵素) に対する gRNA を作製し、I 型 IFN 関連遺伝子の発現を指標に解析を行った。また、絞り込まれた候補酵素群を欠損させ、リポミクス解析により変化している脂質代謝物を評価した。さらに、脂質代謝物の細胞への添加による抗ウイルス応答への影響についても再度検証をした。

(2) : STING 活性を司る T 細胞特有の脂質スイッチシステムの解明

脂質スイッチ制御により、STING の活性化機構の検証をする。STING の活性化リガンドの定量や、脂質スイッチの制御により STING のリガンドへの感受性が変化するかの評価を行った。また、脂質スイッチ制御により、STING がどのような修飾を受けるか? リン酸化やパルミトイル化に着目をした解析を行なった。

(3) : マウス感染症モデルを用いた「脂質-STING」を軸とした抗ウイルス応答の検証  
これまでに、(1)で同定した脂質スイッチを制御したT細胞が、インフルエンザウイルスへのマウスの抵抗性を増強することがわかっていた。本項目では、脂質代謝酵素の阻害剤が、致死量のインフルエンザウイルス感染に対して、防御的に作用するかの評価を行なった。

#### 4. 研究成果

これまでの研究から、T細胞の脂質代謝経路を制御することで、抗ウイルス応答が誘導されることがわかっている。本研究案では「脂質代謝による抗ウイルス応答の誘導機構の解明」を目的に、3つの実験を計画した。進捗・結果については下記の通りである。

- (1) : T細胞の抗ウイルス活性を高める責任酵素・脂質の同定  
どのような細胞内脂質代謝物かが、T細胞の抗ウイルス応答に重要であるかの検証を行った。CRISPR/Cas9システムによる遺伝子編集および高精度リポミクス解析を用いることで、抗ウイルス応答の誘導には、一価の不飽和脂肪酸が欠乏することが大事であることがわかった。
- (2) : STING活性を司るT細胞特有の脂質スイッチシステムの解明  
脂質代謝経路の制御により、細胞内のウイルスセンサーであるSTINGが自発的に活性化することがわかっている。本研究案においては、STINGの活性化リガンドcGAMPが、脂質代謝経路の制御により増大することがわかった。
- (3) : マウス感染症モデルを用いた『脂質-STING』を軸とした抗ウイルス応答の検証  
本研究案においては、項目1で同定された一価不飽和脂肪酸の合成酵素の阻害剤が、マウスの抗ウイルス応答を誘導するかについて検証をおこなった。その結果、インフルエンザウイルス感染の前・後のどちらに阻害剤を投与しても、阻害剤を投与したマウスの抗ウイルス応答が増強されることが分かった。

本研究案に関する業績は下記の通りである。

#### 論文

Kanno T, Nakajima T, Yokoyama S, et al. SCD2-mediated monounsaturated fatty acid metabolism regulates cGAS-STING-dependent type I IFN responses in CD4+ T cells. *Commun Biol.* 2021;4(1):820. Published 2021 Jun 29. doi:10.1038/s42003-021-02310-y

Kanno T, Miyako K, Nakajima T, et al. SCD2-mediated cooperative activation of IRF3-IRF9 regulatory circuit controls type I interferon transcriptome in CD4+ T cells. *Front Immunol.* 2022;13:904875. Published 2022 Aug 18. doi:10.3389/fimmu.2022.904875

#### 学会発表

SCD2-mediated monounsaturated fatty acid metabolism regulates cGAS-STING-dependent type I IFN responses in CD4+ T cells  
第50回免疫学会学術集会 2021年12月8日

病原体センサーSTING活性を誘導する脂質代謝経路の解明  
第31回 Kyoto T Cell Conference (KTCC) 2022年5月28日

SCD2-mediated cooperative activation of IRF3-IRF9 regulatory circuit controls type I interferon transcriptome in CD4+ T cells  
第51回免疫学会学術集会 2022年12月8日

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Toshio Kanno, Keisuke Miyako, Takahiro Nakajima, Satoru Yokoyama, Shigemi Sasamoto, Hikari K Asou, Osamu Ohara, Toshinori Nakayama, Yusuke Endo	4. 巻 13
2. 論文標題 SCD2-mediated cooperative activation of IRF3-IRF9 regulatory circuit controls type I interferon transcriptome in CD4+ T cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in 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） 10.3389/fimmu.2022.904875	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kanno Toshio, Nakajima Takahiro, Yokoyama Satoru, Asou Hikari K., Sasamoto Shigemi, Kamii Yasuhiro, Hayashizaki Koji, Ouchi Yasuo, Onodera Taishi, Takahashi Yoshimasa, Ikeda Kazutaka, Hasegawa Yoshinori, Kinjo Yuki, Ohara Osamu, Nakayama Toshinori, Endo Yusuke	4. 巻 4
2. 論文標題 SCD2-mediated monounsaturated fatty acid metabolism regulates cGAS-STING-dependent type I IFN responses in CD4+ T cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	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） 10.1038/s42003-021-02310-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 菅野 敏生
2. 発表標題 SCD2-mediated cooperative activation of IRF3-IRF9 regulatory circuit controls type I interferon transcriptome in CD4+ T cells
3. 学会等名 第51回 日本免疫学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野 敏生
2. 発表標題 病原体センサーSTING活性を誘導する脂質代謝経路の解明
3. 学会等名 第31回 Kyoto T Cell Conference (KTCC)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野 敏生
2. 発表標題 SCD2-mediated monounsaturated fatty acid metabolism regulates cGAS-STING-dependent type I IFN responses in CD4+ T cells
3. 学会等名 第50回 日本免疫学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2021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