

第8回湯河原ウイルス学キャンプ聴講録

若手講演「ウイルス感染におけるインフラマゾームの役割」

講師：一戸猛志 先生（九州大学大学院医学研究院ウイルス学）

「ウイルス感染におけるインフラマゾームの役割」を拝聴して

東京都医学総合研究所・ウイルス感染プロジェクト

山崎達也

私の大学時代の先輩である一戸先輩は、ご自身が大学院生時代に国立感染症研究所感染病理部の長谷川秀樹先生のもとでアジュバント併用経鼻インフルエンザワクチンの研究を続けてこられた経緯から、生体のインフルエンザウイルス認識機構とそれによる獲得免疫の制御機構に興味を持たれ、卒業後すぐに渡米して Yale 大学医学部免疫生物学部門の岩崎明子先生のラボへ留学された。今回は、そこで明らかにした NLRP3 インフラマゾームによるインフルエンザウイルス認識機構を中心にわかりやすくまとめてお話をしてくださいました。

《概要》

【宿主細胞のインフルエンザウイルス認識機構について】

インフルエンザウイルスは一本鎖 RNA ゲノムをもつウイルスである。このウイルスゲノムは、自然免疫応答に関わるパターン認識受容体である Toll-like-receptor 7 (TLR7) と Retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) を介して認識されることは知られていた。しかしながら、自然免疫に関与する他の分子群で、細胞内パターン認識受容体の大きなファミリーを形成している NOD-like receptors (NLRs) のインフルエンザウイルス認識機構についてはそれまで不明だった。

【NLRP3 インフラマゾームとは】

NLRP3 とは NLRs ファミリーのひとつである。NLRP3 はさまざまな刺激によって活性化すると、アダプター分子の ASC と未成熟型の caspase-1 (pro-caspase-1) をリクルートして巨大なタンパク質複合体の NLRP3 インフラマゾームを形成する。これにより活性化した caspase-1 は別のシグナルで誘導されてきた細胞質内の未成熟型 IL-1 β (pro-IL-1 β) を切断して活性型とし、細胞外への分泌を促進する。

【インフラマゾームによる新しいウイルス認識機構を発見した瞬間】

NLRP3 インフラマゾームによるインフルエンザウイルス認識機構も TLR7 や RIG-I と同様、ウイルス RNA を介したものであると予想した一戸先輩は、マウス骨髄由来マクロフ

ァージに、インフルエンザウイルス、センダイウイルス、レオウイルス、RS ウイルス（ともに RNA ウイルス）、さらに DNA ウイルスである単純ヘルペスウイルスをそれぞれ感染させた。NLRP3 インフラマゾームがウイルス RNA によって活性化されているのであれば、これらすべての RNA ウイルスは感染細胞から同程度の IL-1 β を誘導することが予想されたが、結果は全く異なるものであった。感染 24h 後の培養上清中の IL-1 β を ELISA で測定するとセンダイウイルス、レオウイルス、RS ウイルス感染細胞からは、IL-1 β をほとんど検出することができず、インフルエンザウイルスを感染させた場合のみ、非常に高いレベルの IL-1 β が検出された。さらにマウス骨髄由来マクロファージに、インフルエンザウイルスゲノム RNA または合成二本鎖 RNA である poly(I:C)をトランスフェクションした場合、高いレベルのインターフェロン mRNA の誘導が認められたが、同じ細胞の培養上清中には、IL-1 β をほとんど検出することができなかった。生きたインフルエンザウイルスを感染させた場合のみ高いレベルの IL-1 β が誘導されたことから、ウイルス RNA は NLRP3 インフラマゾームを活性化しないこと、NLRP3 インフラマゾームを活性化しているのはインフルエンザウイルスがコードするウイルスタンパク質である可能性が示唆された。

【H⁺選択的なイオンチャネルの M2 タンパク質によるインフラマゾームの活性化】

予備的な実験を続ける中で、インフルエンザウイルス M2 タンパク質のプロトンチャネル活性を阻害するアマンタジンが、インフルエンザウイルスによる NLRP3 インフラマゾームの活性化を有意に抑制することを発見した。NLRP3 インフラマゾーム活性化における M2 タンパク質のイオンチャネル活性の役割を調べるために、プロトンチャネル活性を欠いた変異インフルエンザウイルス（M2del ウイルス）による実験を行った。するとこの M2del ウイルスは、野生型のウイルスと比較して、感染細胞からの IL-1 β の放出が有意に抑制されていることが明らかとなった。さらにプロトンチャネル活性を持つ M2 タンパク質をレンチウイルスベクターによりマウス骨髄由来マクロファージに発現させると、それだけでインフラマゾームを活性化して培養上清中に IL-1 β を放出した。最後にはこの M2 タンパク質が、酸性条件のトランスゴルジに局在することが NLRP3 インフラマゾームの活性化に必要であることを明らかにした。

【ウイルスと宿主の攻防の観点から】

インフルエンザウイルスの M2 タンパク質は、ウイルスが細胞に吸着してからエンドサイトーシスの経路によって取り込まれる際に、エンドゾーム内の酸性条件に反応してウイルス粒子内へ H⁺を取り込むのに必要なウイルスタンパク質である。この「脱殻」のステップは、HA による「膜融合」とあわせてウイルスが細胞内へ侵入するために必要である。これと同時にウイルス mRNA から新たに合成された M2 タンパク質は、宿主のタンパク質分泌経路に乗り、トランスゴルジに到達したときにその内部の pH (pH6.0-6.5) に反

応して、トランスゴルジ内の H⁺を細胞質側へ流出させる。M2 タンパク質によりトランスゴルジ内の pH を中和することは、ウイルスの HA の正しい立体構造の維持の為に必要であり、感染性インフルエンザウイルスの効率的な産生のために必須である。しかし、宿主はこのインフルエンザウイルスの戦略を逆手に取り、NLRP3 自然免疫受容体を利用したインフルエンザウイルスの検出システムに利用していた。

【感想】

TLR7 や RIG-I といったウイルス RNA を認識する自然免疫機構とは異なり、ウイルス感染によってもたらされる細胞内イオンバランスの変化の認識という新しい自然免疫機構の提唱ということでとても感銘を受けました。このようなインパクトの高い研究を身近な先輩がしているということは、研究員として踏み出したばかりの私にとって大きな刺激となりました。今回が初めての参加でしたが、ウイルス学キャンプは普段の学会とはまたひとあじ異なる飾らないアットホームな雰囲気の中、さまざまな分野の先生方のお話を聞くことができ、いつもより気軽に質問をすることができたのでとても勉強になりました。また寝食をともにすることで大御所の先生方から若手研究者同士の不思議な一体感を感じることができました。