

# 「代謝で抗ウイルス応答をコントロール」 脂質代謝スイッチによる 抗ウイルス性転写制御システムの解明

かずさDNA研究所先端研究開発部オミックス医科学研究室の遠藤 裕介 室長の研究グループは千葉大学大学院の中山 俊憲 学長と共同で、脂質代謝制御による抗ウイルス遺伝子の転写制御システムを解明しました。

## ■研究の背景

生体はウイルスに感染すると、様々な免疫細胞を活性化させることでウイルスを排除しようとします。生体防御反応は2種類の免疫応答システム(注1)に支えられており、感染後に迅速に働く自然免疫応答、二度目の感染を防ぐ獲得免疫応答が挙げられます。本研究グループはこれまでに、獲得免疫応答の中枢を担うT細胞を脂質代謝により制御する研究を行うことで、T細胞にはウイルス感染を鋭敏に察知し抗ウイルス性I型IFN(注2)を誘導する「脂質代謝スイッチ」が備わっていることを明らかにしています。

## ■本研究の成果

本研究グループは、「脂質代謝スイッチ」による抗ウイルス応答の誘導にはIRFファミリー転写因子(注3)による協調的な転写制御が重要であることを発見しました(図1)。我々はまず、次世代シーケンサー(注4)による網羅的な解析により、IRFファミリー転写因子のうちIRF3がI型IFNの産生を担う転写因子であることを突き止めました。また、I型IFN依存的にIRF9が活性化することで、抗ウイルス遺伝子の発現が制御されることがわかりました。IRFファミリー転写因子に着目した一連の研究により、「脂質代謝スイッチ」による抗ウイルス応答の転写制御システムを世界で初めて明らかにしました。

## ■今後の展開

「脂質代謝スイッチ」を標的とするウイルス制御法の優れた点の一つとして、抗原特異性を必要としないことが挙げられます。そのため、コロナウイルス、アデノウイルスなどの幅広い種類のウイルスに対応可能な、抗ウイルス性T細胞を簡便に誘導することができます。今後、「脂質代謝スイッチ」の全容を明らかにすることで、「脂質代謝-免疫」を基軸とした抗ウイルス薬の開発を目指しています。

本研究は、千葉大学の中山 俊憲 学長 の協力を得て行いました。

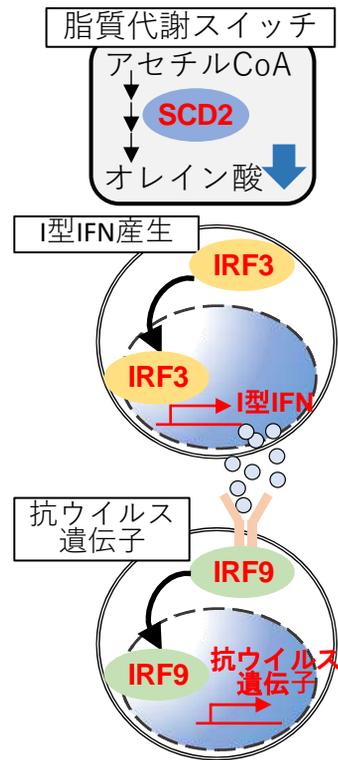


図1: 本研究成果の概要  
「脂質代謝スイッチ」を  
介する転写制御システム

本研究成果は、2022年 8月 18 日 6時 (米国東部時間) 発行の米国科学誌「Frontiers in Immunology」オンライン版に掲載されました。

論文タイトル: "SCD2-mediated cooperative activation of IRF3-IRF9 regulatory circuit controls type I interferon transcriptome in CD4+ T cells" (SCD2を介したIRF3-IRF9制御回路の協調的な活性化が、CD4T細胞におけるI型インターフェロンのトランスクリプトームを制御する)

## ■ 研究の背景と経緯

免疫細胞はウイルスを認識すると即座に活性化し、抗ウイルス作用をもつI型IFNを産生することで生体防御反応を引き起こします。このI型IFNはウイルスの感知や排除に重要なタンパク質を誘導することで周囲の細胞の抗ウイルス応答を増強することが知られています。こうしたI型IFNの作用に加え、獲得免疫系の細胞による免疫記憶の構築が、より効果的なウイルスの排除に貢献します。免疫記憶は、獲得免疫系の司令塔であるT細胞が外来抗原を認識し、一過性に増殖することから始まります。抗原排除後に残った記憶T細胞は、同じ外来抗原が再度生体に侵入した際に強力かつ迅速に応答します。

ここ数年間の研究にて、T細胞は分化段階(ナイーブ→エフェクター→記憶T)に応じて、全く異なる代謝経路を使用していることが明らかになりつつあります。代謝システムの視点から、脂肪酸代謝と抗ウイルス応答の関連性について検討を重ねた結果、脂質代謝酵素SCD2 (注5)の欠損により、I型IFNを高産生するT細胞が誘導されることを発見しました。こうした発見を軸にして、T細胞には脂質代謝経路の制御により、I型IFN依存的に抗ウイルス応答を増強する「脂質代謝スイッチ」が備わっていることを着想しました(Endo et al. *Nature Metab.* 2019, *J Exp Med.* 2021, *Commun Biol.* 2021)。我々は「脂質代謝スイッチ」による抗ウイルス応答の増強メカニズムの解明を目的として、I型IFNや抗ウイルス遺伝子の誘導を行う転写制御システムに着目をして、本研究に着手しました。

## ■ 研究の内容

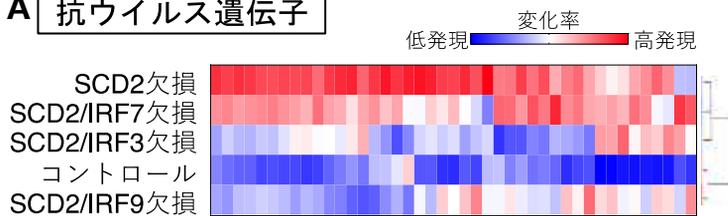
本研究グループは、まず幅広い免疫応答を制御するIRFファミリー転写因子に着目をしました。IRFファミリー転写因子には9つのメンバー (IRF1~9) が含まれていますが、その中でもIRF3, IRF7, IRF9がI型IFN応答に重要であることが知られています。そこで我々は、これらの転写因子が欠損した際に生じる影響を、次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子発現解析(RNA-Seq) (注6)により評価を行いました。その結果、SCD2欠損T細胞で誘導される抗ウイルス遺伝子は、IRF7を欠損しても誘導されたままでしたが、IRF3またはIRF9を欠損することにより、遺伝子の発現が抑制されることがわかりました(図2A)。

これらのことから「脂質代謝スイッチ」による抗ウイルス応答の増強にはIRFファミリー転写因子の中でも、IRF3およびIRF9が重要であると考えられます。また、細胞生物学的な検証を詳細に行ったところ、SCD2欠損T細胞では、IRF3がI型IFNの誘導を担うこと(図2B)、産生されたI型IFNを介してIRF9が核内へと移行していること(図2C)が明らかになりました。

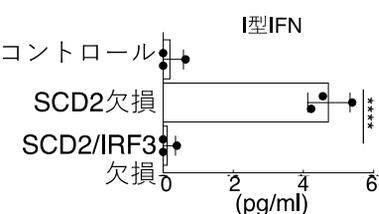
転写因子IRF9は多様な抗ウイルス遺伝子の発現を誘導することが知られていますが、「脂質代謝スイッチ」により、どのような種類の抗ウイルス遺伝子をIRF9が制御するかについては不明なままでありました。そこで我々は、「脂質代謝スイッチ」によりIRF9が「①どのような遺伝子領域に結合をして」「②どのような遺伝子の発現を制御しているか」に焦点をあて研究を進めました。

図2

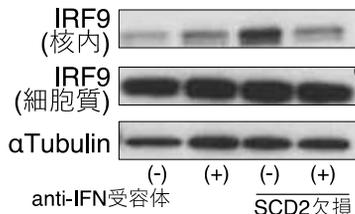
### A 抗ウイルス遺伝子



### B I型IFNの産生



### C IRF9の核内移行



### 図2: 「脂質代謝スイッチ」によるIRFファミリー転写因子の活性化

- (A) マウス脾臓由来のT細胞のSCD2およびIRFファミリー転写因子(IRF3, IRF7, IRF9)の遺伝子を欠損させた。抗ウイルス遺伝子の発現量を網羅的に解析したところ、IRF3もしくはIRF9の欠損によりSCD2欠損T細胞でみられていた、抗ウイルス遺伝子の誘導が抑制された。
- (B) T細胞の培養液上清の解析を行った。SCD2の遺伝子欠損によりI型IFNの産生量が増大した。また、IRF3を同時に欠損することでI型IFNが産生されなくなった。
- (C) IRF9の核内への移行を評価した。SCD2の遺伝子欠損によりIRF9の核内への移行が誘導された。また、I型IFN受容体の阻害剤により、IRF9の核内移行が抑制された。

## ①IRF9がどのような遺伝子領域に結合しているか

我々はまずゲノム全体におけるIRF9の結合領域を調べられるクロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-Seq) (注7)により、SCD2欠損T細胞におけるIRF9の結合パターンを評価しました。その結果、IRF9の欠損により抗ウイルス遺伝子の発現が抑制される結果(図1A)や、SCD2の欠損によりIRF9の核内への移行が促進される結果(図1C)と一貫して、SCD2欠損T細胞でもIRF9が抗ウイルス遺伝子の制御領域へと結合することを発見しました。また、SCD2欠損T細胞でみられたIRF9の結合遺伝子のほとんどが、I型IFNを投与したT細胞でのIRF9の結合遺伝子と半分以上が共通しており(図3A,B)、このことからSCD2欠損T細胞ではIRF9が抗ウイルス遺伝子の発現を制御していることが考えられます。一方で、SCD2欠損T細胞のみで検出されたIRF9の結合遺伝子も検出されたことから、SCD2欠損T細胞ではI型IFN投与T細胞とは異なる抗ウイルス遺伝の制御領域へとIRF9が結合していることがわかります(図3C,D)。

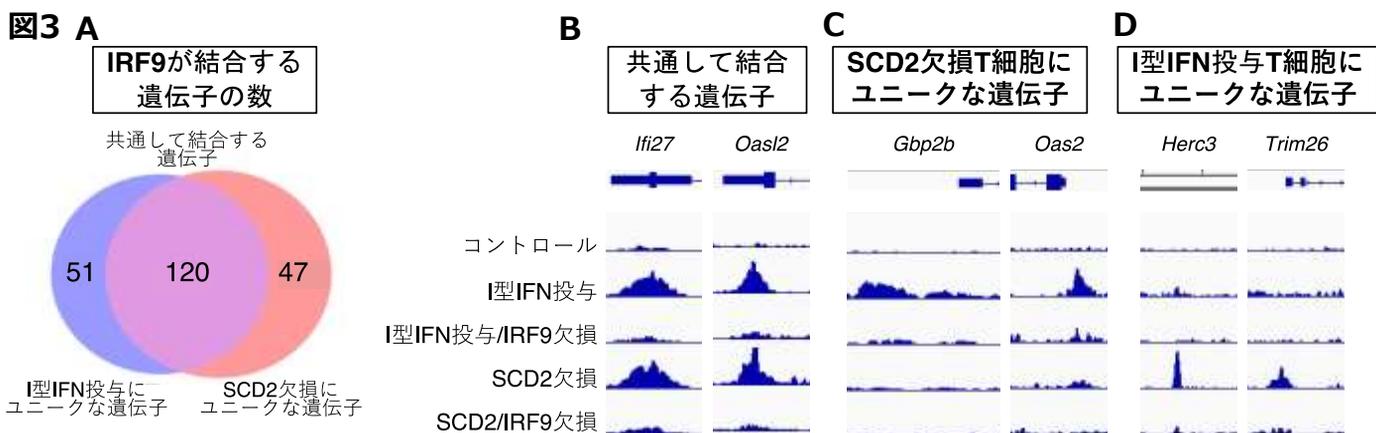


図3:SCD2欠損によりIRF9が結合する遺伝子領域の評価

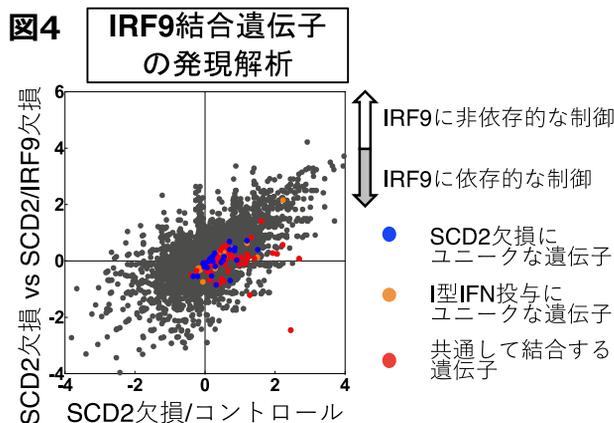
(A-D) SCD2欠損T細胞でのIRF9の結合領域を評価するために抗IRF9抗体を用いてChIP-Seq解析を行った。検討の結果、SCD2の欠損によって、I型IFNを投与した場合と同程度の数の遺伝子にIRF9が結合することがわかった(A)。また、こうした共通してIRF9が結合する遺伝子(B)に加えて、SCD2欠損T細胞(C)、I型IFN投与T細胞(D)のそれぞれで、IRF9がユニークに結合する遺伝子も検出された。

これらの結果から、SCD2の欠損によりIRF9の抗ウイルス遺伝子領域への結合が促進されること、またSCD2欠損T細胞ではI型IFN投与T細胞とは異なる遺伝子領域の制御を行っていることが考えられる。

## ②IRF9の結合する遺伝子領域と遺伝子発現の関係性について

次に私たちは、SCD2欠損T細胞、I型IFN投与T細胞で共通もしくはユニークにIRF9が結合する遺伝子に着目をして、これらの遺伝子の発現がIRF9により制御されているかについて評価を行いました。RNA-SeqおよびChIP-Seqのデータを組み合わせて解析を行ったところ、SCD2欠損T細胞では、これらの共通もしくはユニークにIRF9が結合する抗ウイルス遺伝子は、IRF9依存的に発現の制御が行われていることがわかりました(図4)。

一連の結果より、「脂質代謝スイッチ」による抗ウイルス応答の増強にはIRF転写ファミリーが協調的に作用することが重要なことが示されました。SCD2欠損T細胞では、IRF3を介してI型IFNが産生され、その結果IRF9が活性化して抗ウイルス遺伝子の発現を調節しているがわかりました。また、SCD2欠損T細胞では、I型IFN投与T細胞とは異なるユニークな遺伝子領域へIRF9が結合していることがわかりました。本研究により、抗ウイルス応答を誘導するIRF転写因子ファミリーの制御に「脂質代謝スイッチ」が関与していることを示す知見が得られました。



4: SCD2欠損T細胞でのIRF9の結合領域と遺伝子発現の解析

ChIP-Seq解析により得られたSCD2欠損T細胞、I型IFN投与T細胞で共通/非共通してIRF9が結合する遺伝子領域に着目をした。これらの遺伝子の発現量について、SCD2欠損T細胞でIRF9を欠損した場合に生じる影響について評価を行った。

## ■今後の展開

本研究では、IRFファミリー転写因子に着目することで、「脂質代謝スイッチ」による抗ウイルス応答の制御システムを世界で初めて明らかにしました。我々はまず、IRFファミリー転写因子の中でも、IRF3がI型IFNの産生を担うことを明らかにしました。また、RNA-SeqおよびChIP-Seqを用いた解析により、SCD2欠損T細胞ではIRF9が抗ウイルス遺伝子の発現調節を担っていること、また、SCD2欠損T細胞ではIRF9の抗ウイルス遺伝子領域への結合様式は、I型IFN投与T細胞とは異なることがわかりました。

「脂質代謝スイッチ」は、従来の抗ウイルス薬のようにウイルス種が限定される医薬品とは異なり、ウイルスの種類を問わずに作用する点でも独創的であると考えられます。そのため、究極的には、「脂質代謝スイッチ」の研究が発展することにより、新興感染症の蔓延時にも即座に対応可能な広域的な抗ウイルス薬の開発に繋がることが期待されます。

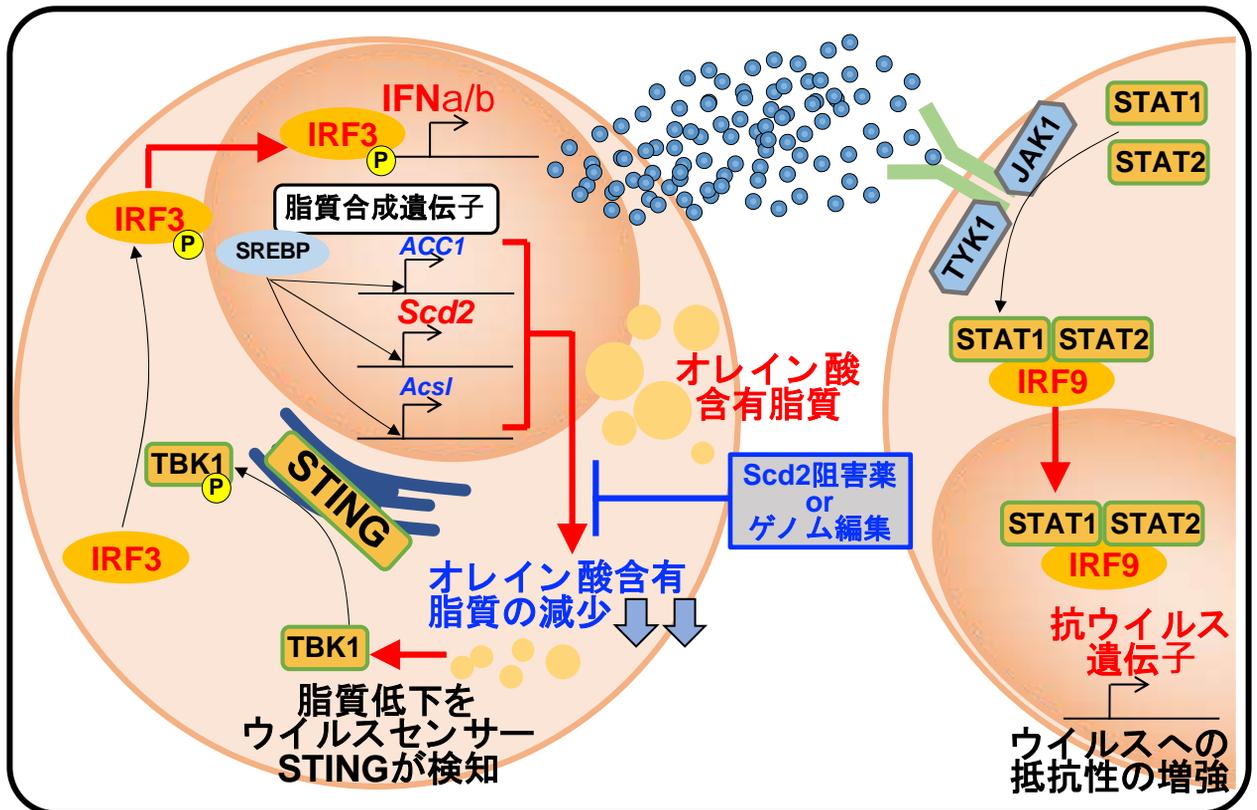


図5:本研究で明らかとなった「脂質代謝スイッチ」によるIRFファミリー転写システム

## ■千葉大学とかずさDNA研究所の連携について

2009-2014年：

地域イノベーション戦略支援プログラムにおいて、千葉県が国から受けた競争的資金をもとに、かずさDNA研究所を中核機関として、医療を担う千葉大学と、基礎研究で最先端をいく理化学研究所が連携して、免疫・アレルギー疾患の克服を目指した研究を行い、数多くの成果をあげた。

2015年：

これまでの研究成果の臨床活用、および千葉県における医学研究の発展に向けて、千葉大学未来医療教育研究機構と人事交流も含めた密な連携関係を構築していく包括的な共同研究契約を締結。

2016年：

千葉大学がこれまでに行ってきたがん、免疫・アレルギー、各種疾患に関する研究とかずさDNA研究所がこれまでに蓄積してきたゲノム解析技術を統合して、ゲノム医療の実現を加速するための連携研究室を設置し、ゲノム医学に対する新しい取り組みを開始。

2018年：

かずさDNA研究所に蓄積されたヒトゲノム研究の成果を将来のゲノム医療の展開に活用していくために、様々な先端計測により実現される「オミックス」解析と医学研究の統合による新しい研究領域を切り拓いていくことを目指し、オミックス医科学研究室を新設。クロスアポイントメント制度を利用して、千葉大学大学院医学研究院特任准教授である遠藤裕介氏が室長に就任した。

\* クロスアポイントメント制度とは；

研究者が大学、公的研究機関、民間企業のうち、二つ以上の組織と雇用契約を結び、一定の勤務割合の下で、それぞれの組織における役割分担や指揮命令系統に従いつつ、研究・開発および教育などの業務に従事することを可能にする制度。新たなイノベーションを創出するための技術移転や、人材の流動化の促進につながると期待される。

## ■用語解説

注1：免疫応答システム

有害な病原体から生体を防護するために、生体には自然免疫応答と獲得免疫応答の2つのシステムが備わっている。自然免疫応答は、侵入後数時間で活性化され、抗ウイルス性I型IFNの産生や侵入した異物の貪食を行う。獲得免疫応答は、活性化に数日かかるが、特定の病原体を認識することでより強力に病原体の排除を行う。また一度体内に侵入した病原体を記憶することで、二度目以降に同じ病原体へ感染した際に、より迅速に病原体の排除を行うことができる。

注2：I型IFN

有害な病原体が体内に侵入した際に、自然免疫系の細胞から迅速に産生される抗ウイルス性物質。ウイルスの複製を阻害することでウイルスへの抵抗性の増強や、感染した細胞の積極的な排除を行う。

注3：IRFファミリー転写因子

IRF1～IRF9の9つのメンバーからなり、それぞれで高い相同性を有する。特定の配列をもつDNA領域へと結合をして遺伝子発現を制御する。T細胞分化を含む免疫細胞の制御や抗ウイルス応答の制御に重要な役割をもつことが知られている。

#### 注4：次世代シーケンサー

この十数年の間に急速に広まった生物の設計図となる遺伝子配列を高速で読み出す装置。遺伝子配列を読み出す能力が従来の装置よりも桁違いに多いため、解析に要する時間やコストを大幅に短縮することができる。

#### 注5：SCD2

脂肪酸は、炭素鎖の長さや二重結合の数によって細胞内での動態が異なる。また、脂肪酸の中にある二重結合の数によって、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸（それぞれ0個、1個、2個以上の二重結合を有する）に分類することができる。SCD2は、オレイン酸に代表されるような一価不飽和脂肪酸合成の律速酵素である。

#### 注6：RNA-Seq

mRNAは細胞の核内でDNAのもつ遺伝情報を転写し、タンパク質合成の場へ伝える役割を担う。RNA-Seqとは、次世代シーケンサーを用いて、細胞内にある10,000種類以上のmRNAの発現量を網羅的に解析を行う技術をさす。

#### 注7：ChIP-Seq

次世代シーケンサーを用いて、転写因子とDNAの複合体を解析することにより、転写因子がどのようなDNA領域に結合しているかをゲノムワイドに解析をする技術をさす。

#### 【本研究に関するお問い合わせ】

かずさDNA研究所 オミックス医科学研究室 室長 遠藤 裕介（エンドウ ユウスケ）

Tel : 0438-52-3929 携帯電話 : 080-5445-5923 Fax : 0438-52-3954

E-mail : endo@kazusa.or.jp

#### 【取材に関するお問い合わせ】

かずさDNA研究所 広報・研究推進グループ

Tel : 0438-52-3930 E-mail : kdri-kouhou@kazusa.or.jp