



細胞が外来物質を取り込むメカニズムを解明 ～インフルエンザウイルス感染予防にも期待～

研究成果のポイント

- ・ 細胞内カルシウム濃度上昇が、外来因子の取り込みに重要であることを発見。
- ・ インフルエンザウイルスがこのカルシウム上昇を利用して細胞内に侵入することを発見。
- ・ カルシウムの抑制によりインフルエンザウイルスをはじめとする多くの物質の取り込みが低下。
- ・ 新たなインフルエンザウイルス感染対策の概念と可能性を提示。

研究成果の概要

私たちの体の中の細胞は、細胞外の環境変化に対し適切なシグナル伝達経路を活性化することで応じています。したがって、それら細胞の応答を理解することは、細胞の生理機能や生体内の恒常性維持を理解するうえで非常に重要です。今回我々は、細胞が外来因子に暴露された際に、外来因子を積極的に取り込もうとするメカニズムが存在することを発見しました。このメカニズムは、細胞カルシウムイオン⁽¹⁾の濃度上昇を中心とする様々な因子からなるシグナル伝達のネットワークから構成されます。外来因子の一つであるインフルエンザウイルスは、このメカニズムを利用して効率良く細胞内に侵入することが明らかとなりました。ウイルスの細胞侵入プロセスは、既存の抗インフルエンザ治療の標的とは全く異なることから、新たな概念での治療法開発も期待されます。この研究成果は北海道大学大学院医学研究科・細胞生理学分野（大場雄介教授）の研究室において、藤岡容一郎博士（日本学術振興会特別研究員）が中心となって進めた研究により得られたものであり、Nature Communications 誌に公表されました。

論文発表の概要

研究論文名：A Ca²⁺-dependent signalling circuit regulates influenza A virus internalization and infection
(Ca²⁺依存性の細胞内シグナル伝達経路がインフルエンザウイルスの取込と感染を制御する)
著者：氏名（所属）：藤岡容一郎，津田真寿美，南保明日香，服部ともえ，宮崎忠昭，大場雄介（北海道大学），佐々木純子，佐々木雄彦（秋田大学）
公表雑誌：Nature Communications
公表日：日本時間（現地時間）2013年11月14日（木）午後7時（米国東部時間11月14日午前5時）

研究成果の概要

(背景)

細胞は外界の環境変化に適応するために細胞内シグナル伝達機構を持っています。よって、個々の細胞が環境変化に対しどのように応答するかを調べることは、細胞の生理機能や生体内の恒常性維持を理解するうえで重要です。これまでに我々は、細胞が外来因子に暴露された際、細胞内の Ras-PI3K シグナル⁽²⁾⁽³⁾の活性化を介してエンドサイトーシス⁽⁴⁾を亢進し、外来因子を積極的に取り込む機構があることを報告しました。そこで、外来因子が細胞内の Ras-PI3K シグナルを活性化するメカニズムを探索しました。

(研究手法)

本研究室が得意とする蛍光バイオイメージング手法を用い、外来因子の一例として、デキストラン⁽⁵⁾、トランスフェリン⁽⁶⁾、インフルエンザウイルス粒子が細胞に取り込まれる様子を捉えました。また、それらが細胞内に取り込まれる際に活性化する一連の宿主細胞側シグナル伝達因子群の動態を、生きた細胞内で評価しました。

(研究成果)

インフルエンザウイルスが宿主細胞に侵入する際に、細胞内カルシウム濃度の一過性上昇が、複数回生じることを明らかにしました。細胞内のカルシウムを抑制（キレート）すると、ウイルスの侵入と感染が著しく阻害されました。また、カルシウム上昇を維持する機構として、カルシウム濃度上昇→RhoA⁽⁷⁾活性化→カルシウム濃度上昇という循環するシグナル経路が存在することを見出しました。その結果として、いくつかのエンドサイトーシス経路が亢進し、亢進したエンドサイトーシスに乗じてウイルスが細胞に侵入することが明らかになりました。

(今後への期待)

ウイルスは自身の複製のためには細胞への感染が必須のため、実に巧妙に細胞が本来持つ機能に便乗して、細胞へ侵入します。本研究の様に、ウイルスを用いて細胞の機能を探求する研究により、従前は明らかではなかった細胞に潜むメカニズムの解明が加速するものと期待されます。一方、今回発見したエンドサイトーシスを利用して細胞に侵入する経路は、ウイルスの垂型に依らず保存されており、このシグナル伝達経路を標的とした治療は広範囲のウイルスに有効な対策の基盤となることも期待されます。特にインフルエンザウイルスの場合、頻繁な変異獲得がその対策上問題となっていますが、本研究により変異が生じる核内でのウイルス RNA 複製より前のステップである細胞侵入の機構が明らかになったため、耐性を生じにくい創薬への発展も期待できます。

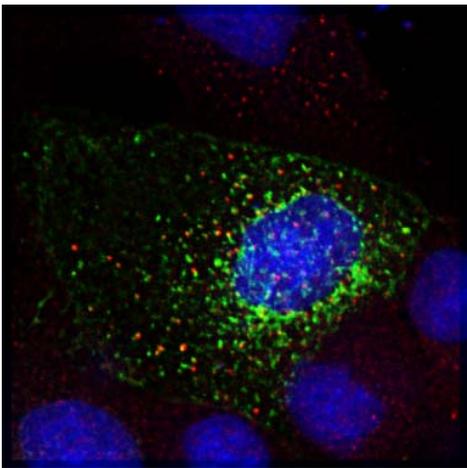
なお、本研究は科学研究費補助金基盤研究（B）、新学術領域研究、科学技術振興機構シーズ発掘試験、秋山記念生命科学振興財団等からの支援を受けています。

お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院医学研究科 教授 大場雄介（おおば ゆうすけ）

TEL：011-706-5158 FAX：011-706-7877 E-mail：yohba@med.hokudai.ac.jp

ホームページ：http://www.cellsignal-imaging.com/



赤: インフルエンザウイルス粒子
 緑: (後期)エンドソーム
 青: 核

図1 インフルエンザウイルスが細胞に取り込まれ、細胞内小器官に到達する様子

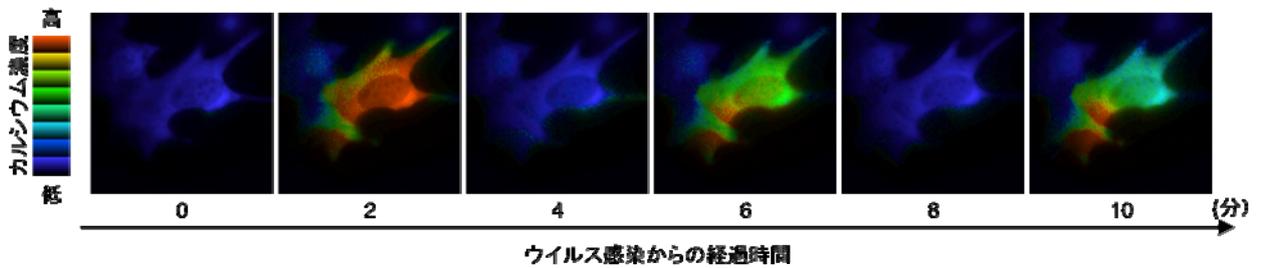


図2 ウイルス感染による細胞内カルシウムイオン濃度の一過性上昇

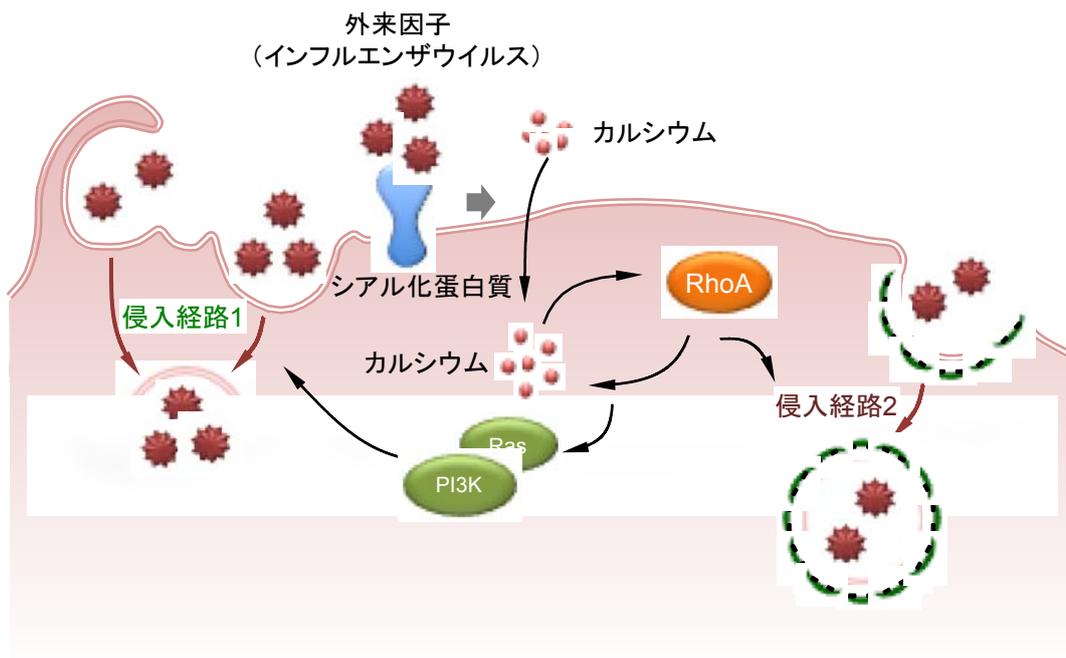


図3 今回明らかになった宿主細胞の外来因子の取り込み機構

用語説明

(1) カルシウムイオン

我々の体の中で最も多いミネラルであり、筋肉の収縮、神経活動、酵素の活性化、ホルモン分泌等に関わっている。細胞内ではカルシウムイオン濃度は細胞外に比べて低く保たれており、刺激に応答したカルシウムイオン濃度の上昇を介して、様々なシグナル伝達が活性化する。

(2) Ras

細胞の増殖や運動能のほか、細胞死の抑制など数多くの基本的な細胞機能を制御する低分子量GTP結合タンパク質の一種である。グアニンヌクレオチドニリン酸(GDP)が結合した不活性化型、グアニンヌクレオチド三リン酸(GTP)が結合した活性化型を往復することで分子スイッチとして機能する。スイッチがオンの状態(活性化型)の時に標的分子と結合し機能を発揮するが、標的分子が多数あるため、Rasの多機能性は標的分子の多様性で説明されることが多い。我々は以前より、Rasと標的分子の結合とその機能解析を行っており、PI3Kがインフルエンザウイルス感染に重要であることを見出している。今回の成果は、その後の継続した研究により得られたものである。

(3) PI3K (phosphoinositide 3-kinase)

イノシトールリン脂質のイノシトール環3位の水酸基をリン酸化する脂質リン酸化酵素。イノシトールリン脂質は真核生物細胞膜構成成分の一つで、PI3Kはホスファイノシタイド4,5-ニリン酸PtdIns(4,5)P₂からPtdIns(3,4,5)P₃を生成し、その下流因子を活性化して細胞分化・増殖や代謝、細胞遊走、細胞骨格の再構築など多様な生物活性を引き起こす。特にプロテインキナーゼB(PKB)/Aktを活性化する経路はPI3K-Akt経路と呼ばれ、インスリンの分泌など様々な生理作用に関与する。

(4) エンドサイトーシス

細胞膜が陥入した後小胞(エンドソーム)を形成することで外部の物質を細胞内に取り込む過程。細胞外からの栄養、ホルモン、神経伝達物質等の他、病原体等にもエンドサイトーシスで取り込まれるものも多い。また、細胞表面分子数の調整を行う等、細胞自身の恒常性維持にも寄与する。取り込む物質の種類や大きさ、あるいは細胞側のマシナリーによりいくつかに分類される。

(5) デキストラン

微生物によって産生されるD-グルコースのみから構成される多糖類の一種。産業上は医薬品、化粧品、写真フィルムなどに用いられる。細胞にエンドサイトーシスで取り込まれる外来因子である。

(6) トランスフェリン

鉄を運搬する血漿タンパク質の一つ。デキストランとは異なるエンドサイトーシスで細胞に取り込まれる。

(7) RhoA

Rasと同様に低分子量GTP結合タンパク質で、細胞骨格の主な制御因子。細胞運動、細胞極性、細胞接着、細胞周期、細胞質分裂、転写制御等において中心的な役割を果たす。