

東京大学定量生命科学研究所
日本医療研究開発機構

自然免疫の外来 DNA センサー cGAS が自己の染色体 DNA に反応しないメカニズムを解明
～ウイルス感染症防御、自己免疫疾患、癌、神経変性疾患などの疾患の原因解明への一歩～

発表者：

胡桃坂 仁志（東京大学定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 教授）
鯨井 智也（東京大学定量生命科学研究所 クロマチン構造機能研究分野 助教）

発表のポイント：

- ◆ 自然免疫における DNA センサー cGAS（注 1）が、自己の染色体 DNA によって不活化されるメカニズムを解明しました。
- ◆ DNA とヌクレオソーム（注 2）の共存下では、cGAS が DNA ではなくヌクレオソームに選択的に結合することで、自身の免疫及び炎症反応を誘導する活性を抑制します。
- ◆ cGAS は、ウイルス感染症、自己免疫疾患、癌、老化、神経変性疾患など、多岐にわたる疾病に関与していることから、これらの疾患の原因解明や治療法確立への応用が期待されます。

発表概要：

胡桃坂仁志教授ら東京大学定量生命科学研究所のグループは、米国ロックフェラー大学の船引宏則教授らのグループと共同で、自然免疫における DNA センサー cGAS が、自己の染色体 DNA によって不活化されるメカニズムを解明しました。

生物は、ウイルスなどの外来の微生物に対する防衛策として自然免疫機構を備えています。この機構で中心的な役割を担うのが、cGAS(cyclic GMP-AMP synthase)-STING(stimulator of interferon genes)経路です。この経路では、外来の非自己 DNA が細胞に侵入すると、DNA センサーである cGAS が結合して活性化し、STING を通じて炎症反応が誘起されます。一方で細胞内には、自己の設計図である染色体 DNA が存在するため、自己の DNA に対する免疫応答を回避するために cGAS は染色体 DNA に対しては常に不活性化されている必要があります。船引宏則教授らによる近年の研究から、cGAS が染色体の基本単位であるヌクレオソームに結合すると、cGAS の DNA に対する応答反応が不活化されることが報告され、これにより自己免疫応答が回避されることがわかってきました。しかし、その詳細なメカニズムは不明でした。

本研究チームは、最新のクライオ電子顕微鏡(注 3)による立体構造解析と生化学的解析とを組み合わせて、cGAS がヌクレオソームにより不活化される分子メカニズムを解明しました。具体的には、cGAS とヌクレオソームが結合した複合体を試験管内で再構成し、その立体構造をクライオ電子顕微鏡により解析することで、cGAS がヌクレオソームによって不活性化されている様子を捉えました。その結果、cGAS の活性化に必要な、3つの DNA 結合領域と二量体形成領域のすべてがヌクレオソームによってブロックされることを発見しました。そして、立体構造情報に基づき変異体解析を行った結果、cGAS のヌクレオソーム結合領域の変異によって、

ヌクレオソームによる cGAS の不活化が損なわれ、自己免疫応答の状態になることがわかりました。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (BINDS) 「エピジェネティクス研究と創薬のための再構成クロマチンの生産と性状解析」 (代表: 胡桃坂仁志、JP20am0101076)、日本学術振興会 (JSPS) の新学術領域研究「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」における「ヌクレオソーム高次構造とダイナミクスの解析によるクロマチン潜在能の解明」(代表: 胡桃坂仁志、JP18H05534)、若手研究「自然免疫 DNA センサーによるクロマチンの認識と構造制御機構の解明」(代表: 鯨井智也、JP20K15711)、および科学技術振興機構 (JST) の戦略的創造研究推進事業 (ERATO) 「胡桃坂クロマチンアトラスプロジェクト」(総括: 胡桃坂仁志、JPMJER1901) の支援を受けて実施されました。

本研究成果は、2020 年 9 月 10 日 (米国東部標準時) に米国科学誌「*Science*」のオンライン速報版に掲載されました。

発表内容：

<研究の背景と経緯>

生物は、ウイルスなどをはじめとする外来の微生物に対する防衛策として自然免疫を備えています。この機構として、ヒトを始めとする高等動物では、外来 DNA を検知し免疫及び炎症反応を誘起する cGAS(cyclic GMP-AMP synthase)-STING(stimulator of interferon genes) 経路が中心的役割を果たしています。この経路では、まず cGAS が外来 DNA に結合して活性化し、cGAMP というシグナル伝達物質を合成します。そして、STING が cGAMP を認識してその後続く経路を活性化し、インターフェロンを含む免疫及び炎症反応の遺伝子産物が産生されます。cGAS には 3 つの DNA 結合サイト A、B、C があり、cGAS は二量体化しつつ、これらの DNA 結合部位を介して DNA に結合することで活性化します(図 1 左)。

一方で細胞内には、自己の遺伝情報 (設計図) である染色体 DNA が存在します。自己の染色体 DNA に cGAS が反応すると自己免疫疾患となってしまうため、cGAS は染色体 DNA に対しては常に不活化されている必要があります。近年、ウイルス感染防御のみならず、cGAS が自己免疫疾患や癌、老化、神経変性疾患をはじめとする広範な疾病に関与することが次々と報告され、cGAS による自己、外来 DNA の認識機構の解明が今まさに期待されていました。

染色体の基盤構造であるヌクレオソームは、4 種類のヒストンタンパク質からなるヒストン 8 量体に DNA が 1.7 回巻きつくことで形成されています。染色体は、このヌクレオソームが DNA によって数珠状に連なったものです。これまでに、cGAS がヌクレオソームに結合すると、cGAS の活性が不活化されることが報告されており、これにより自己免疫応答が回避される可能性が考えられていました。しかし、その不活化の詳細なメカニズムは未だ不明でした。

<研究の内容>

東京大学定量生命科学研究所の胡桃坂仁志教授、鯨井智也助教らの研究グループは、米国ロックフェラー大学の船引宏則教授、Christian Zierhut 博士らと共同で、最新のクライオ電子顕微鏡を用いた立体構造解析を中心に、生化学的解析とを組み合わせることで、cGAS がヌクレオソームによって不活化される分子メカニズムを解明しました。

まず本研究では、cGAS とヌクレオソームの複合体を試験管内で再構成しました。そして、クライオ電子顕微鏡解析によって、cGAS がヌクレオソームによって不活化されている様子を捉えることに世界で初めて成功しました。その結果、2つの cGAS 分子が、2つのヌクレオソームに挟まれるように結合するという、サンドイッチのような構造をとっていることが明らかになりました(図 2)。この構造において、cGAS の活性化に必須である 3つの DNA 結合サイト A、B、C と二量体形成領域のすべてが、ヌクレオソームとの結合によってブロックされていることがわかりました(図 1 右)。これら cGAS の 3つの DNA 結合サイトのうち B サイトは、ヌクレオソーム内の DNA ではなくヒストンと直接結合することが明らかになりました。この発見により、DNA とヌクレオソームの共存下では、cGAS が DNA ではなくヌクレオソームに選択的に結合することで、自身の免疫及び炎症反応を誘導する活性を抑制することがわかりました。実際、ヒストンとの結合が欠損した変異では、DNA による cGAS 活性化をヌクレオソームが阻害できなくなりました。このことは、cGAS 変異によるヌクレオソーム結合の欠損が、自己免疫疾患の原因となることを示唆しています。

<今後の展開>

cGAS は、外来の微生物に対応するために中心的な役割を担っていますが、同時に、外来 DNA と自己 DNA を厳密に区別しなければ自己免疫疾患を引き起こしてしまいます。実際、cGAS は自己免疫疾患、癌、老化、神経変性疾患をはじめとする、非常に広範な疾病に関与することが急速に明らかになりつつあり、cGAS の機能の解明が、基礎生物学だけでなく、医学・薬学分野から期待されています。

今回の研究から、cGAS がヌクレオソームによって不活性化されるメカニズムとして、cGAS の活性化に必要な 3つの DNA 結合サイトおよび二量体形成領域がすべてブロックされる、ということが明らかになりました。本成果は、cGAS が自己の染色体 DNA と外来 DNA を見分ける機構という、自然免疫の中心的な問いに対して答えを与えるものです。加えて今回の発見は、cGAS が関連する広範な疾患の原因解明や治療法確立のために重要な情報を提供すると考えられます。

発表雑誌：

雑誌名：*Science*

論文タイトル：Structural basis for the inhibition of cGAS by nucleosomes

著者：Tomoya Kujirai[†], Christian Zierhut[†], Yoshimasa Takizawa, Ryan Kim, Lumi Negishi, Nobuki Uruma, Seiya Hirai, Hironori Funabiki*, Hitoshi Kurumizaka*

(※ 第一著者に[†]、責任著者に*)

問い合わせ先：

<研究に関すること>

東京大学定量生命科学研究所

教授 胡桃坂 仁志 (クルミザカ ヒトシ)

〒113-0032 東京都文京区弥生 1-1-1

<報道担当>

東京大学定量生命科学研究所 総務チーム

〒113-0032 東京都文京区弥生 1-1-1

Tel : 03-5841-7813

E-mail : soumu@iqb.u-tokyo.ac.jp

<AMED 事業について>

日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬事業部医薬品研究開発課

創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (BINDS)

TEL : 03-6870-2219 FAX : 03-6870-2244

E-mail : 20-DDLSG-16@amed.go.jp

用語解説：

注 1)cGAS

DNA に結合すると活性化し、cGAMP というシグナル伝達物質を合成することで、自然免疫を活性化する酵素。ウイルスなどの外来 DNA に対するセンサーとして働く。

注 2)ヌクレオソーム

染色体の最小単位。DNA を折りたたむ基盤となる構造。ヒストンタンパク質で作られるコアに、DNA が左巻きに 1.7 回転巻きついている。

注 3)クライオ電子顕微鏡

サンプルを氷に埋め込んだ状態で、電子顕微鏡によって生体高分子の立体構造を解析する手法。2017 年に開発者らがノーベル化学賞を受賞したことで知られている。

添付資料：

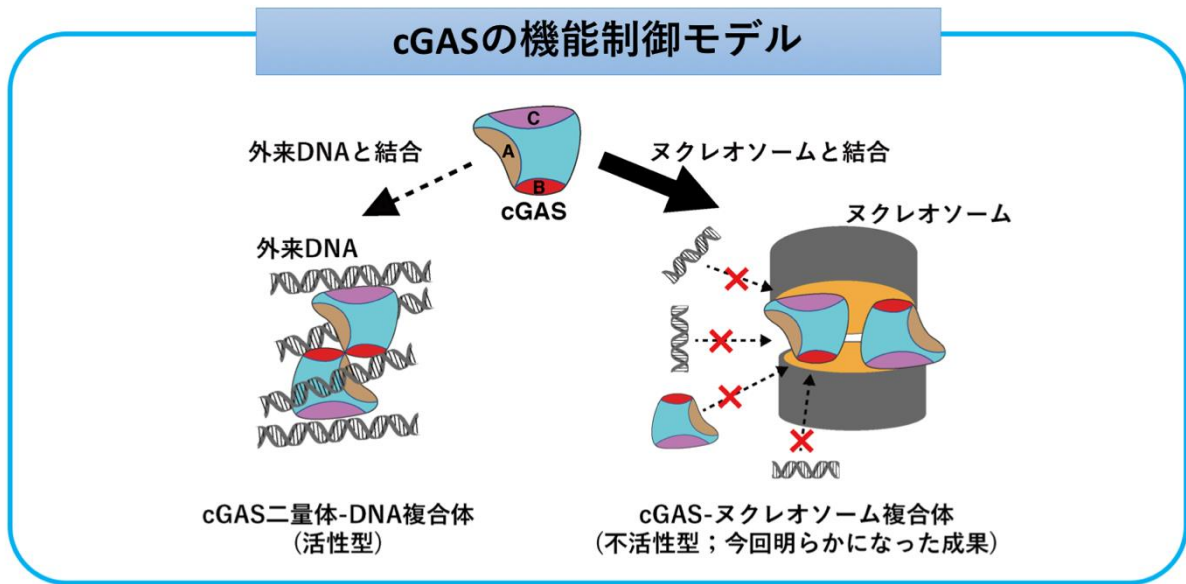


図1 本研究から得られた cGAS の機能制御モデル

cGASは、二量体化し、3つのDNA結合サイトA、B、Cを介して外来DNAに結合することで活性化される。一方で、cGASは、外来DNAよりもヌクレオソームに優先的に結合する性質を持ち(太い矢印)、ヌクレオソームに結合すると二量体形成領域および3つのDNA結合サイトはヌクレオソームにブロックされ、不活性型となる。このような機構によって、cGASは染色体に結合した際に不活性化される。

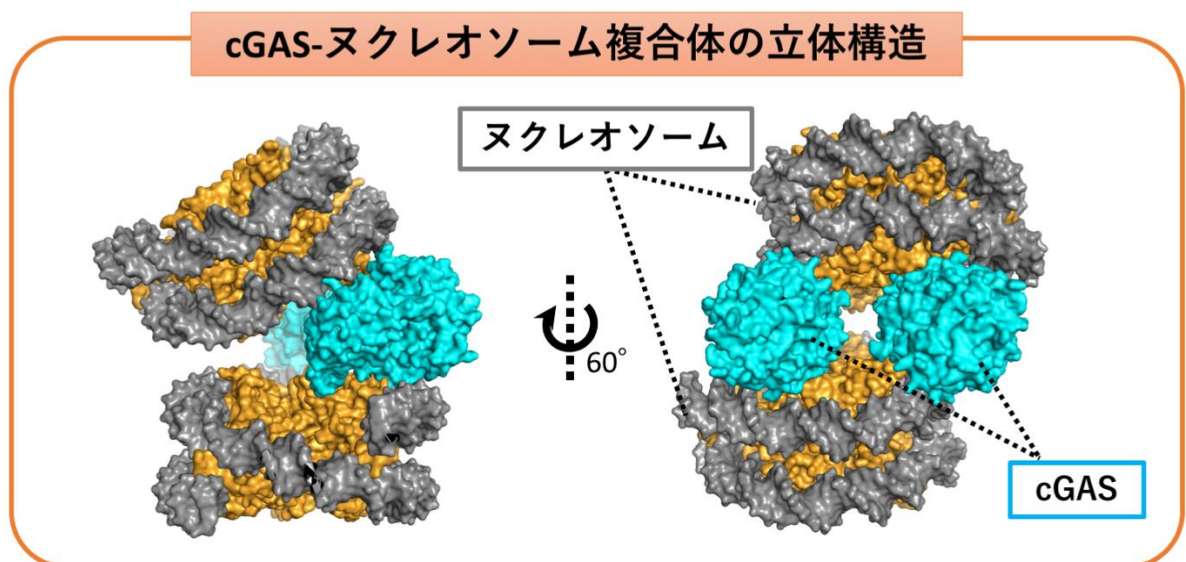


図2 本研究から得られた cGAS-ヌクレオソーム複合体構造

cGAS-ヌクレオソーム複合体が、2つのcGAS分子が、2つのヌクレオソームにサンドイッチされるように結合した構造であることが、世界で初めて明らかになった。