

Molecular mechanism underlying the termination of the innate immune STING signalling

著者	Kuchitsu Yoshihiko
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第20487号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00135004

博士論文（要約）

**Molecular mechanism underlying the termination of the innate
immune STING signalling**

(STING 自然免疫シグナルの収束を制御する
分子機構の解明)

令和 3 年度
東北大学 大学院 生命科学研究科
脳生命統御科学専攻
朽津 芳彦

【背景・目的】

「自然免疫」は、生まれながらにして我々の体に備わっている“異物”に対する応答機構である。小胞体に局在する膜タンパク質 STING は、ウイルスの感染などによって細胞内に出現した DNA に応答して、自然免疫応答を活性化する分子として同定された。STING は感染防御に重要である一方で、STING の恒常的な活性化は自己炎症性

疾患などの難治性疾患を引き起こすことが相次いで報告され、STING の活性化制御機構に注目が集まっている (Kuchitsu et al., *JSIAD J* 2021)。STING は、細胞質 DNA の出現に応答して小胞体からゴルジ体へと速やかに局在を変え、自然免疫反応を活性化する。その後、STING は最終的に細胞内分解の中心的な役割を果たす「リソソーム」と呼ばれる細胞小器官へと運搬され分解を受け、自然免疫反応は収束する。しかしながら、分泌経路にのっている STING が、どのようにリソソームに到達するのか、その分子メカニズムは不明であった。本研究では、超解像度顕微鏡・電子顕微鏡観察、STING 分解を指標にした遺伝子スクリーニングなどを駆使し、STING のリソソーム分解を制御する分子機構の解明を行なった (図 1)。

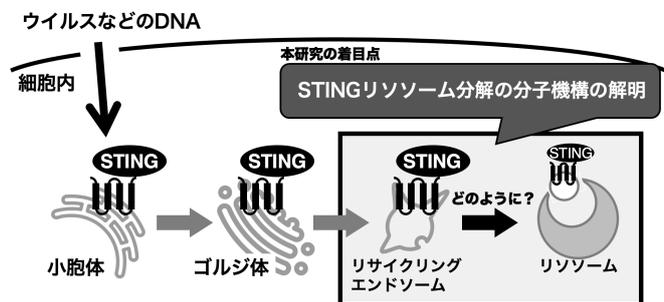


図 1：本研究の着目点

【方法・結果】

1) リソソームによる STING の内包化・分解現象

哺乳類におけるリソソームは約 500 nm の直径をもつ細胞小器官、一方、STING 膜は、リソソームよりも小さい構造体である。加えて、リソソーム、STING 膜ともに細胞内を活発に動いているため、両者を正確にイメージングするためには、高速 (0.2 秒以下/フレーム) かつ超高解像 (x-y 分解能 200 nm 以下) のライブイメージング技術が必須であった。超解像度ライブセルイメージングにより、STING とリソソームを観察すると、STING がリソソームに接近した後、約 30 秒で STING がリソソーム内に直接取り込まれ、約 80 秒で分解される現象を捉えた (図 2)。

さらにこの内包化・分解機構を詳細に解析するためには、電子顕微鏡技術による観察が必須と考え、

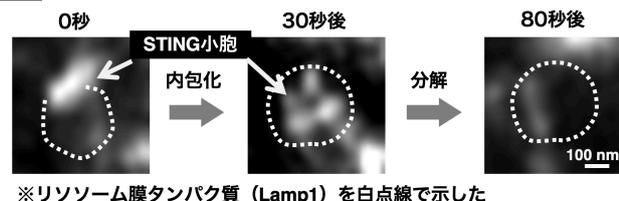


図 2：STING の超解像ライブイメージング観察

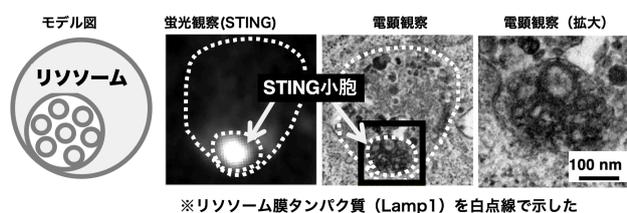


図 3：STING の CLEM 法による観察

CLEM法 (Correlative Light & Electron Microscopy: 光-電子相関顕微鏡法)による観察を実施した。CLEM法による観察の結果、直径100nm程度のSTING膜小胞が複数まとまってリソソーム内に取り込まれていくことがわかった(図3)。以上の結果から、隔離膜を必要とするマイクロオートファジーのメカニズムとは異なり、STING膜がリソソームに直接取り込まれ、次いで分解を受けることが明らかになった。

II) ESCRT複合体による内包化プロセスの制御

リソソームが分解基質を直接内包化し、分解する現象はマイクロオートファジーと呼ばれ、1960年代に電子顕微鏡による観察によってその存在が示唆されているが、哺乳類におけるその現象の実態は不明なままである。そこで、STINGのマイクロオートファジー分解を制御する分子メカニズムの同定を試みた。細胞質DNAの出現に反応して、STINGは、「小胞体→ゴルジ体→リサイクリングエンドソーム→リソソーム」と運搬され、最終的にリソソームで分解される。そこで、

酵母において、「ゴルジ体→リソソーム」という輸送経路を制御する約70種類のvps遺伝子(vacuolar protein sorting)に着目した。哺乳類に保存される約80種類のvps遺伝子の発現抑制スクリーニングを行い、STINGのマイクロオートファジー分解を制御する遺伝子の同定を行った。その結果、オルガネラ膜の変形に関与することが知られているESCRT(endosomal sorting complexes required for transport)複合体によって、STINGのマイクロオートファジー分解(リソソームへの内包化プロセス)が制御されることが明らかになった。さらに、ESCRT複合体の欠損により、内包化プロセスを阻害すると、STINGによる自然免疫応答が顕著に増強されることがわかった。この結果から、ESCRT複合体によるSTINGのリソソームへの内包化がSTING自然免疫シグナルの収束に必要であることが明らかになった。

【結論・考察】

本研究において、STINGがリソソームへ運搬されて分解される過程を詳細に観察した結果、直径100nm程度の複数のSTING陽性小胞がまとまってリソソームによって直接内包化され、分解されていく現象(マイクロオートファジー)を明らかにすることができた。さらに本現象を制御する因子としてESCRT複合体を同定し、このプロセスが炎症応答の収束に必要であることを示した。本研究により、哺乳細胞におけるリソソームマイクロオートファジーの存在とその生理学的重要性がはじめて明らかになった。今後は、STING以外の分解基質を同定することで、リソソームマイクロオートファジーの細胞内分子代謝における重要性を明らかにしていきたい。

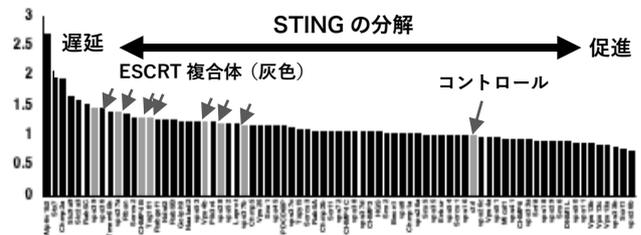


図4 STINGの分解を制御するvps遺伝子の探索結果