

微小核は cGAS 自然免疫を活性化しない

— 一定説を覆す成果 —

概要

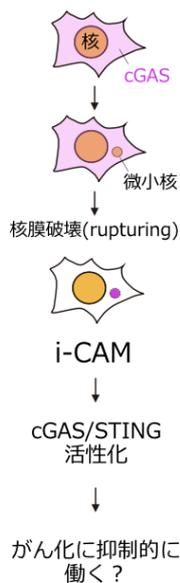
我々の細胞には、細菌やウイルス由来の核酸に反応する自然免疫機構が備わっています。中でも cGAS/STING 応答経路は、自分自身の核酸を含む微小核によっても活性化されることが近年報告され、その影響が注目されていました。しかし、微小核が cGAS を活性化する直接的な証拠はほとんどありませんでした。

林真理 京都大学大学院医学研究科 客員准教授(兼: IFOM ETS グループリーダー)、佐藤裕樹 同生命科学研究所博士課程学生らのグループは、染色体融合を持つ細胞核を可視化できる独自のレポーター細胞を開発し、微小核に対する cGAS-STING 応答を詳細に解析しました。その結果これまでの定説に反して、cGAS が微小核 DNA を認識するのは細胞分裂期中であり、さらにその後 STING は活性化されていないことを発見しました。また、これまで報告されていた cGAS-STING 活性化は、細胞質基質に漏れ出したミトコンドリア DNA が原因である可能性が示されました。

他の細胞種や生物種においても同様のことが成り立つかは今後の解析が必要ですが、その際はミトコンドリアを正常に保つことが重要であることが示されました。微小核による自然免疫応答は細胞老化やがん化抑制等に寄与すると言われていましたが、今回の成果はこれら既存のモデルの再考を促す重要なものとなりました。

本研究成果は、2024年2月2日に、国際学術誌「Life Science Alliance」にオンライン掲載されました。

これまでのモデル



本研究で提唱したモデル

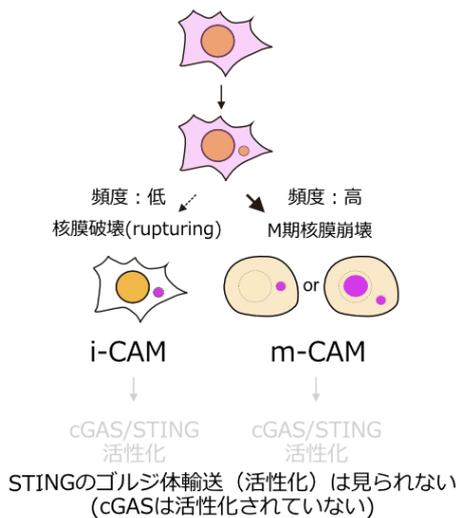


図 微小核に対する cGAS-STING 経路応答モデル

これまで cGAS の微小核への凝集は cGAS 活性化の指標として扱われていたが、cGAS 凝集は必ずしも cGAS 活性化を意味しておらず、微小核は cGAS に対して不活性化であることがわかった。

i-CAM: interphase-cGAS accumulation in MN (間期のcGAS凝集)
m-CAM: mitotic cGAS accumulation in MN-derived chromatin (M期のcGAS凝集)

1. 背景

我々の細胞には、外部から侵入してきた細菌やウイルスに応答する自然免疫機構が備わっています。中でも、細胞質基質に存在する二本鎖 DNA 等の外来核酸に応答する機構として、cGAS-STING 応答経路（用語 1）が知られています。さらにこの経路は、微小核（用語 2）と呼ばれる自分自身の核酸を含む異常な細胞内構造体によっても活性化されることが近年報告され、細胞に対する影響が注目されていました。しかしながら、微小核が cGAS を活性化するという報告は、相関関係から因果関係を類推したものが多く、直接的な証拠はほとんどありませんでした。

2. 研究手法・成果

研究グループは、特殊な人工 DNA 配列をヒト培養細胞の染色体に導入することで、新たなレポーター細胞を作成しました。FuVis2（Fusion Visualization system 2）と名付けられたこのレポーター細胞では、好きなタイミングで研究者が染色体融合を誘導し、その細胞の核を蛍光タンパク質で可視化してラベルすることができます。FuVis2 を用いることで、染色体融合によって生じた微小核の運命を、個別の生細胞において詳細に解析することが可能になりました。FuVis2 に cGAS 及び STING タンパク質を可視化するレポーターを追加で搭載し、微小核形成後の細胞を解析したところ、これまでの報告とは異なり、cGAS が微小核 DNA を補足するのは細胞分裂期であり、さらに同じ細胞ではその後も STING の活性化が生じていないことが分かりました（図）。また、放射線で生じた微小核が cGAS-STING 経路を活性化すると報告されていましたが、放射線後の STING 活性化は微小核の形成や微小核への cGAS 凝集とは無関係であり、ミトコンドリア DNA が細胞質基質に漏れ出すことが原因であることを詳細な生細胞解析から明らかにしました。

現在、微小核が cGAS-STING 経路を活性化する、というモデルは多数のレビュー誌で紹介され、ほぼ定説のように扱われていますが、今回の成果はこのモデルの再考を促す非常に重要なものです。

3. 波及効果、今後の予定

今回の結果は、ヒト大腸がん由来 HCT116 をもとに作成されたレポーター細胞から得られたものなので、他の細胞種や生物種においても同様のことが成り立つかは今後の解析が必要ですが、その際はミトコンドリアを正常に保った条件で解析することが非常に重要であることが示されました。微小核による自然免疫応答は細胞老化やがん化抑制、さらにはがんの悪性化等の様々な細胞運命に寄与すると言われていましたが、今回の成果はこれら既存のモデルの再考を促すものとなりました。自然免疫応答に対して不活性であることで、微小核はこれまで考えられていたよりもさらに危険な染色体異常であるのかも知れません。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は JSPS 科研費 20H03183 の助成を受けており、イタリア分子癌研究所 IFOM ETS と京都大学 On-site Laboratory 事業が同大学院医学研究科に共同設置する IFOM-KU 国際共同ラボの元で実施したものです。また、研究のベースとなった FuVis レポーターは、京都大学白眉プロジェクトの元で作成されました。

<用語解説>

1. **cCAS-STING 応答経路**：cGAS (cyclic GMP-AMP synthase) が細胞質基質の二本鎖 DNA を認識・凝集して活性化されると、AMP と GMP を基質として 2'3'-cyclic GMP-AMP(cGAMP)というセカンドメッセンジャーを生成する。cGAMP は小胞体膜上に分布する STING (stimulator of interferon genes)と結合、STING のゴルジ体移行・凝集 (本研究で STING 活性化の指標として利用) による活性化を誘導する。活性化 STING は TBK1 (TANK-binding kinase 1) を活性化、さらに TBK 1 に活性化された IRF3 (interferon regulatory factor 3) が核内に移行し、インターフェロン誘導遺伝子群 (ISGs) の発現が誘導される。ISGs は炎症性老化や、細胞死・免疫活性化等によるがん化抑制、またある条件下ではがん細胞の悪性化まで、様々な細胞応答に関わることが報告されている。
2. **微小核**：正常なヒト細胞では染色体 DNA は1つの核 (主核) に収められている。微小核は、染色体の融合や動原体形成異常等を原因とする染色体分配の失敗により、細胞質基質に小型の核様構造体として生じる。核膜が正常に形成されず、核膜の異常破壊 (rupturing) が生じると報告されている。放置すると微小核内の染色体 DNA の大幅な改変や、遺伝子発現の制御異常等を引き起こす。

<研究者のコメント>

『本研究は当初、これまで広く信じられてきた仮説について、「生細胞を用いて1細胞レベルで確認する」という目的を掲げて始まりました。しかし、思いがけないことに我々の結果は、これまでの仮説の再考を促す結果となりました。学生のうちから、このような刺激的な研究に携わることができたことを感謝するとともに、我々の成果が、細胞生物学分野における「生細胞を用いた研究手法」、「個別の細胞に注視した解析」の必要性を改めて示す契機となれば嬉しく思います。』(佐藤裕樹)

<論文タイトルと著者>

タイトル：Micronucleus is not a potent inducer of the cGAS/STING pathway

(微小核は cGAS/STING 経路を効率的に活性化しない)

著者：Yuki Sato, Makoto T. Hayashi

掲載誌：Life Science Alliance DOI: 10.26508/lisa.202302424