

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08819

研究課題名（和文）アイチウイルスのゲノム複製に必要な宿主因子の解析

研究課題名（英文）Analysis of host factors required for Aichi virus genome replication

研究代表者

佐々木 潤（Sasaki, Jun）

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：70319268

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：アイチウイルスは胃腸炎関連ピコルナウイルスである。アイチウイルスを含む多くのピコルナウイルスのゲノム複製部位には特定の脂質が蓄積し、ゲノム複製に重要な働きをしている。本研究では、アイチウイルスゲノム複製部位への脂質の蓄積過程、脂質の輸送や代謝に関与する宿主タンパク質のウイルス複製における役割を明らかにした。本研究により、ピコルナウイルス研究における新たな知見も得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において我々は、アイチウイルスのゲノム複製に必要な宿主因子の役割を明らかにした。これらの研究成果には、ウイルスタンパク質と脂質輸送に必要な宿主因子との間の相互作用の発見など、これまでのピコルナウイルス研究では明らかにされていなかった、新たな知見が含まれている。ピコルナウイルスのゲノム複製メカニズム研究の進展に貢献できたのではないかと考える。

研究成果の概要（英文）：Aichi virus is a picornavirus associated with acute gastroenteritis in humans. Certain lipids are accumulated at the genome replication sites of many picornaviruses including Aichi virus, and play important roles in viral genome replication. In this study, we clarified the process of the accumulation of lipids at the genome replication sites, and the roles of the host factors involved in lipid transfer or metabolism, which are required for Aichi viral genome replication.

研究分野：ウイルス学

キーワード：アイチウイルス ピコルナウイルス ゲノム複製 コレステロール

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

我々は胃腸炎関連のピコルナウイルス、アイチウイルス(AiV)のウイルスゲノム複製機構の解明を目的とした研究を行ってきた。研究開始当時、ピコルナウイルスのゲノム複製における脂質の役割の研究が盛んに行われ、我々を含めた世界各地のグループが、ゲノム複製部位に2種類の脂質、phosphatidylinositol-4-phosphate (PI4P)とコレステロールが蓄積すること、これら脂質の蓄積がゲノム複製に必須であることを明らかにしてきた。これらの脂質を蓄積させるために必要な宿主タンパク質も同定されていた。しかし、まだ不明な点も多く残されていた。

## 2. 研究の目的

ゲノム複製部位への脂質の蓄積には、細胞内のPI4Pの代謝経路や、コレステロール輸送タンパク質である oxysterol-binding protein (OSBP)を介したコレステロール輸送システムをウイルスがハイジャックしていることが考えられた。そこで、これらの代謝経路およびコレステロール輸送システムを構成する宿主タンパク質について、AiV複製への関与を明らかにすること、加えて、脂質輸送に関連する新たな宿主因子を同定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

PI4Pの代謝経路やOSBPを介したコレステロール輸送システムを構成する宿主タンパク質、ならびにそれ以外の細胞内コレステロール輸送や代謝に関与する宿主タンパク質について、1) siRNAを利用したAiVのゲノム複製に与える影響、2) ウイルスタンパク質および既知のAiV宿主因子との相互作用の有無、3) ウイルス複製細胞におけるゲノム複製部位への局在の有無、4) ターゲットとなる宿主タンパク質の阻害剤のウイルスゲノム複製への影響、などを調査した。

## 4. 研究成果

### 1.OSBPを介したコレステロール輸送システムに関与する宿主タンパク質の解析

我々はこれまでに、ウイルスタンパク質がコレステロール輸送タンパク質OSBPを複製部位にリクルートすること、およびOSBPがアイチウイルスの複製に必須であることを示してきた。このOSBPは小胞体からゴルジ体へコレステロールを輸送し、代わりにリン脂質PI4Pを逆方向に輸送するが、このコレステロール/PI4P輸送システムには、多くの他の細胞タンパク質が関与している。本研究では、このような細胞タンパク質がアイチウイルスの複製に関与するかどうか調べた。その結果、OSBPの小胞体の足場の働きをするVAP、PI4Pを脱リン酸化する酵素SAC1、脱リン酸化されたPIを小胞体からゴルジ体へ輸送するPhosphatidylinositol transfer protein beta (PITPNB)などもアイチウイルスゲノム複製に必要であることが示された。さらに、これらのタンパク質の多くが、ウイルスタンパク質と相互作用することも明らかにした。これらの結果は、アイチウイルスがタンパク質相互作用を通じてOSBPによるコレステロール/PI4P輸送システムをハイジャックして、自身のゲノム複製に必要な脂質環境をゲノム複製の場を作っていることを示唆している。このような、タンパク質相互作用を通じたOSBPによるコレステロール/PI4P輸送システムのリクルートでは報告されていない、新たな知見である。

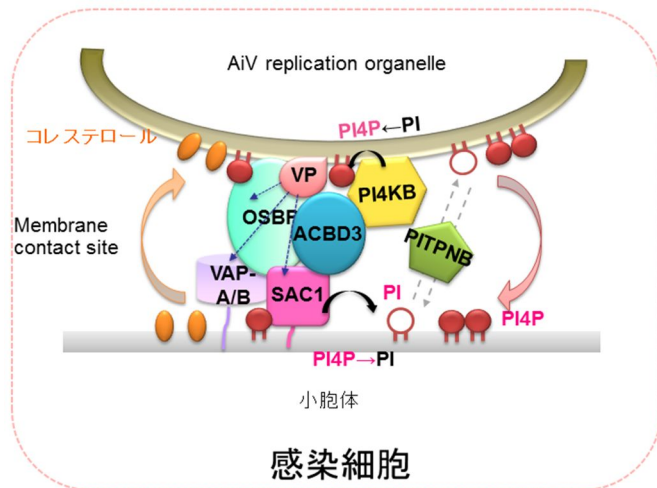


図. アイチウイルスによる、OSBPを介したコレステロール輸送システムのハイジャック

### 2. 脂肪酸不飽和化酵素

不飽和脂肪酸を多く含む脂質膜は流動性が高くなる。プラス鎖RNAウイルスは、細胞内のオルガネラ膜を再編成して小胞を形成し、その内部あるいは表面がゲノム複製の場となる。この膜変形に流動性が重要で、他のウイルスにおいて脂肪酸不飽和化酵素がゲノム複製に必要であることが報告されている。アイチウイルス複製に脂肪酸不飽和化酵素が必

要かどうか解析した。脂肪酸不飽和化酵素阻害剤はウイルスゲノム複製を阻害し、阻害剤によるゲノム複製の抑制は、脂肪酸不飽和化酵素の生成物である不飽和脂肪酸添加により回復した。以上のことから脂肪酸不飽和化酵素活性が AiV ゲノム複製に必要であることが示唆された。

### 3. 細胞内コレステロール合成の重要性

細胞内のコレステロールは、細胞外から取り込まれてくるもの以外に、小胞体で産生されるものがある。コレステロール生合成経路やそれに関連する経路の、いくつかのステップを阻害する薬剤が AiV ゲノム複製に与える影響を調べた。コレステロールが細胞外から供給されている条件下では、コレステロール生合成経路において、ファルネシルピロリン酸以降のステップの阻害剤は AiV ゲノム複製に影響しなかった。ファルネシルピロリン酸以降の、コレステロール生合成とは別の経路の阻害剤が、ウイルスゲノム複製効率を低下させることが分かった。以上の結果から、コレステロールが細胞外から供給されていれば、特に細胞内でのコレステロール生合成は、AiV ゲノム複製に必要ないことが分かった。今回見出された、コレステロール生合成以外の脂質代謝経路の、AiV ゲノム複製における役割を明らかにすることが今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishikawa-Sasaki Kumiko, Nagashima Shigeo, Taniguchi Koki, Sasaki Jun	4. 巻 92
2. 論文標題 Model of OSBP-Mediated Cholesterol Supply to Aichi Virus RNA Replication Sites Involving Protein-Protein Interactions among Viral Proteins, ACBD3, OSBP, VAP-A/B, and SAC1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01952-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1128/JVI.01952-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aguilera Elizabeth R., Nguyen Y, Sasaki Jun, Pfeiffer Julie K.	4. 巻 4
2. 論文標題 Bacterial Stabilization of a Panel of Picornaviruses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 mSphere	6. 最初と最後の頁 e00183-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mSphere.00183-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐々木潤、村田貴之
2. 発表標題 脂肪酸不飽和化酵素SCD1は効率的なアイチウイルスゲノム複製に必要である。
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考