

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18380174

研究課題名(和文) ペスチウイルス感染と宿主初期防衛機構の相互作用の解析

研究課題名(英文) Studies on interactions between pestivi ruses and host innate immune system

研究代表者

明石 博臣 (Akashi Hiroomi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号 10334327

研究成果の概要：

牛ウイルス性下痢・粘膜病の病態解明を目的として、細胞病原性(cp)および非細胞病原性(ncp)牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)を用いて、宿主因子との相互作用を解析したところ、細胞病原性がアポトーシスによって起こること、ウイルス RNA がアポトーシスの原因であることを見出した。また、いくつかの重要な宿主因子がウイルス複製に関与していることを明かした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2007年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：寄生体生物、宿主寄生体相互関係

1. 研究開始当初の背景

BVDV は、妊娠牛に感染した場合、胎子に奇形や持続感染を起こし、経済的に大きな被害を与える。また、持続感染牛は粘膜病という100%致死性の疾病を発病する。この際、培養細胞において変性効果を示す cp ウイルスと持続感染を起こし、全く変化を示さない ncp ウイルスが関与することが知られている。

2. 研究の目的

cp 型と ncp 型ウイルスの遺伝子の構造は知られているが、なぜ培養細胞における病原性が異なるのか、また、それがどのように粘膜病の発症につながるのかは、明かとなっていない。このため、cp および ncp ウイルスと

相互作用する宿主因子を同定し、細胞病原性発現機序を明かとする。

3. 研究の方法

cp、および ncp ウイルス感染、非感染細胞における宿主因子の動態を調べる。また、マイクロアレイによる細胞因子の発現状況を網羅的に解析する。また、過剰発現させたウイルス非構造蛋白(NS)を用いて非構造蛋白と結合する因子を同定する。

4. 研究成果

細胞病原性はアポトーシスによって起こることを確かめ、ウイルス RNA の蓄積が原因であることを明らかとした。感染細胞では、

小胞体ストレス経路やインターフェロン経路が活性化され、宿主因子として ERK のリン酸化や、NS3 とスフィンゴシンキナーゼ 1、NS5A と宿主因子 NIBP との結合を確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

Yamane, D., Zahoor, M.A., Mohamed, Y.M., Azab, W., Kato, K., Tohya, Y. and Akashi, H. (2009) Inhibition of sphingosine kinase by Bovine viral diarrhoea virus NS3 is crucial for efficient viral replication and cytopathogenesis. *J. Biol. Chem.*, 284, 13648 -13659.

Yamane, D., Zahoor, M.A., Mohamed, Y.M., Kato, K., Tohya, Y. and Akashi, H. (2009) Microarray analysis reveals distinct signaling pathways transcriptionally activated by infection with bovine viral diarrhoea virus in different cell types. *Virus Res.*, 142, 188 -199.

Yamane, D., Kato, K., Tohya, Y. and Akashi, H. (2008) The relationship between the viral RNA level and upregulation of innate immunity in spleen of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Microbiol.*, 129, 69 -79.

Giangaspero M, Harasawa R., Weber L, Belloli A. (2008) Genoepidemiological evaluation of Bovine viral diarrhoea virus 2 species based on secondary structures in the 5' untranslated region. *J Vet Med Sci.*, 70, 571 -80.

Giangaspero M, Harasawa R. (2007) Numerical taxonomy of the genus Pestivirus based on palindromic nucleotide substitutions in the 5' untranslated region. *J. Virol. Methods*, 146, 375 -388.

Harasawa R., Aoyama F, Goryo M, Okada K, Nishimura T, Matsubara K, Tsujimoto T, Giangaspero M. (2006) Evidence for pestivirus infection in free-living Japanese serows, *Capricornis crispus*. *Microbiol. Immunol.*, 50, 817 -821.

Yamane, D., Kato, K., Tohya, Y. and Akashi H. (2006) The double-stranded RNA-induced apoptosis pathway is involved in the cytopathogenicity of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus. *J. Gen. Virol.* 87, 2961 -70.

[学会発表](計9件)

山根 大典「牛ウイルス性下痢ウイルスによるスフィンゴ脂質代謝制御を介したウイルス複製機構の解析」 第147回日本獣医学会学術集会 2009年4月2日 宇都宮

山根 大典「スフィンゴシンキナーゼ活性が牛ウイルス性下痢ウイルス複製に与える影響の解析」 第56回日本ウイルス学会学術集会 2008年10月26日 岡山

Zahoor, M. A. "Production and characterization of monoclonal antibodies against bovine viral diarrhoea virus nonstructural 5A protein" 2008年10月26日 岡山

Yamane D. "Interaction of BVDV NS3 with sphingosine kinase 1 is crucial for efficient viral replication and cytopathogenesis" 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses 2008年10月7日 San Antonio, USA

Yamane D. "Analysis of cellular signalling pathway transcriptionally activated following bovine viral diarrhoea virus infections in different cell types using microarray technology." 7th Pestivirus Symposium 2008年9月17日 Uppsala, Sweden

Zahoor, M. A. "Preparation and Characterization of monoclonal antibodies against bovine viral diarrhoea virus nonstructural protein 5A." 7th Pestivirus Symposium 2008年9月16日 -19日 Uppsala, Sweden

山根 大典「牛ウイルス性下痢ウイルス非構造蛋白質 NS3 によるスフィンゴシン

キナーゼ活性制御機構の解析」 第 55 回
日本ウイルス学会 2007 年 10 月 23 日

山根 大典「牛ウイルス性下痢ウイルス
持続感染牛におけるウイルス RNA 蓄積レベ
ルと先天性免疫誘導の関係」 第 144 回日
本獣医学会 2007 年 9 月 3 日 江別、北海
道

山根 大典「牛ウイルス性下痢ウイルス
による病態形成に關与する宿主因子の
探索」 第 54 回日本ウイルス学会 2006
年 11 月 19 日 名古屋

〔図書〕(計 1 件)

動物微生物学 (2008) 分担編集 明
石博臣, 原澤亮 朝倉書店

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
なし。

取得状況 (計 0 件)
なし。

〔その他〕

特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

明石 博臣 (Akashi Hiroomi)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・
教授

研究者番号 10334327

(2) 研究分担者

原澤 亮 (Harasawa Ryo)
岩手大学・農学部・教授

研究者番号 7015910

(3) 連携研究者

なし。