

令和 5 年 5 月 10 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06427

研究課題名(和文) 翻訳制御因子SHFLによる広域スペクトルなウイルス抑制効果の全容解明

研究課題名(英文) Understanding of broad virus suppression effect of translation regulation factor SHFL

研究代表者

竹原 一明 (Takehara, Kazuaki)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40171665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：siRNAやレンチウイルスシステムを用いた SHFL遺伝子を特異的に抑制するノックダウン実験では、SHFL遺伝子、それと共役するPABPC1遺伝子、LARP1遺伝子を含む網羅的な遺伝子発現を追跡できたが、マイナス鎖RNAウイルスである季節性インフルエンザウイルス(H1N1、H3N2)、おたふくウイルス、RSウイルス、メタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス1型、プラス鎖RNAウイルスであるSARS-CoV-2の感染性子孫ウイルスの複製に有意な差は認められなかった。効率的に多段階増殖するウイルス複製の場合、SHFL遺伝子単独では、有意な影響を与えないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SHFL遺伝子単独の遺伝子抑制だけでは、効率よく多段階増殖するマイナス鎖RNAウイルス(季節性インフルエンザウイルスH1N1及びH3N2、おたふくウイルス、RSウイルス、メタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス1型)、プラス鎖RNAウイルス(SARS-CoV-2)感染後のSHFL遺伝子発現抑制細胞と対照の細胞の比較解析において、感染性子孫ウイルスの複製に有意な差は認められなかった。一方、SHFL遺伝子は細胞性翻訳促進因子であるPABPC1遺伝子、LARP1遺伝子とは共役しているため、ウイルス感染や発症の程度など、これまで遺伝子多型と考えられてきた要因の一つには関与すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In knockdown experiments using siRNA or lentiviral systems to specifically suppress the SHFL gene, no significant differences in replication of infectious progeny viruses were observed in seasonal influenza viruses (H1N1, H3N2), mumps virus, RS virus, metapneumovirus, parainfluenza virus, and SARS-CoV-2 infection, respectively. In the case of efficient multistage viral replication, the SHFL gene alone, as in the case of the previously reported plus-stranded RNA viruses, had no significant effect.

研究分野：獣医学

キーワード：SHFL マイナス鎖RNAウイルス プラス鎖RNAウイルス レンチウイルス

1. 研究開始当初の背景

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) や高病原性鳥インフルエンザ H5N1 等の新興感染症だけでなく、季節性インフルエンザや麻疹等のウイルス感染症も、その強力な伝播力と、近年の高度に広域化・高速化された人や物の移動システムにより、瞬く間に世界中に拡散され、パンデミックあるいはエピソードとなる危険性を持つ。これら感染症のコントロールは、基本的なバイオセキュリティ対策やワクチン対策だけでは対応困難なレベルに達し、広域スペクトルの抗ウイルス薬の開発が望まれている。これまでに、フラビウイルス科のデングウイルス (1, 2, 3, 4 型)、C 型肝炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、トガウイルス科のチクングニアウイルス、シンドビスウイルスなど複数のプラス鎖 RNA ウイルスの複製を抑制する宿主因子 Shiftless antiviral inhibitor of ribosomal frameshifting (SHFL) を同定した。本申請では、プラス鎖 RNA ウイルスで実証された SHFL のウイルス抑制効果が、これまで未検証のマイナス鎖 RNA ウイルスや DNA ウイルスに対しても、広域スペクトルで有効であるかを検証する。SHFL による効果的なウイルス抑制効果が認められた場合、SHFL 遺伝子欠損マウスを作出し、培養細胞で認められた SHFL によるウイルス抑制効果について、生体レベルでの解析にスケールアップし、SHFL による生体防御機構の全容解明を試みる。

2. 研究の目的

培養細胞での SHFL のウイルス抑制効果は、デング、C 型肝炎、ウエストナイル、チクングニア、シンドビス、黄熱、ジカウイルスの多数のプラス鎖 RNA ウイルスでの広域スペクトル性は実証されてきた。一方、SHFL のウイルス抑制効果の『真の広域スペクトル性』の検証のため、これまで未検証のマイナス鎖 RNA ウイルスや DNA ウイルスについて、培養細胞での SHFL によるウイルス抑制効果の検証を行い、これらウイルスで有意なウイルス抑制効果が認められた場合、SHFL 遺伝子欠損マウスを作出し、SHFL がウイルス特異的に mRNA の翻訳を阻害している機序を生体レベルで解明する。

3. 研究の方法

SHFL は、型インターフェロン誘導性遺伝子であり、その蛋白質はデングウイルスの翻訳活性を特異的に低下させ、細胞レベルでのウイルス感染防御に貢献していた。更に、フラビウイルス科の C 型肝炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、トガウイルス科のチクングニアウイルス、シンドビスウイルスに加え、他のフラビウイルス科の黄熱ウイルスや新興感染症のジカウイルスにも対してもウイルス抑制効果が認められることから、少なくとも培養細胞でのプラス鎖 RNA ウイルスに対する広域スペクトルでのウイルス抑制効果は十分に検証できたと考えられた。一方、I 型インターフェロンによるウイルスの翻訳抑制は古くから知られている感染阻害メカニズムのひとつであり (Trends Cell Biol. 25:320-9. 2015) SHFL はその翻訳阻害を担う主要なエフェクター分子であると推察され、また、インターフェロン反応はプラス鎖 RNA ウイルスに対してだけでなく、多くのマイナス鎖 RNA ウイルスや DNA ウイルス感染にも応答するため、理論的には『SHFL によるウイルス抑制効果は、ウイルス全般に有効』と考えられた。しかしながら、公衆衛生学的にも重要な、インフルエンザウイルスや麻疹ウイルス等のマイナス鎖 RNA ウイルス、SARS-CoV-2 等のプラス鎖 RNA ウイルスでの検証は未実施であり、SHFL の広域スペクトルのウイルス抑制効果を議論する上で、これらウイルスでの検証は必須である。本申請では、これまでに検証できていない RNA ウイルスや DNA ウイルスの SHFL によるウイルス抑制効果の広域スペクトル性を検証した。

SHFL 遺伝子は 19 番染色体にコードされているが、その分子機能は完全に解明されていない。本申請では、培養細胞での広範囲なウイルス抑制が確認できた場合、生体レベルでの SHFL によるウイルス感染防御機序の解明をするために、SHFL 遺伝子欠損マウスを作出する予定であった。

4. 研究成果

SHFL 遺伝子発現細胞と特異的に抑制する siRNA を用いたノックダウン実験では、感染性子孫ウイルスの複製に有意な差は認められなかった。使用した細胞への siRNA 導入の効率が非常に低いため、SHFL 遺伝子発現抑制率自体も低いことが考えられたため、遺伝子発現抑制方法の改善を試みた。具体的には、遺伝子発現抑制する核酸を直接細胞に導入する方法から、遺伝子発現抑制する核酸をレンチウイルス粒子に封入することで、細胞への導入効率を向上させた。レンチウイルス粒子による遺伝子抑制システムにおいて、マイナス鎖 RNA ウイルスである季節性インフルエンザウイルス (H1N1, H3N2) おたふくウイルス、RS ウイルス、メタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス 1 型、プラス鎖 RNA ウイルスである SARS-CoV-2 を用いた検証では、SHFL 遺伝子発現抑制細胞と対照の細胞の比較解析において、感染性子孫ウイルスの複製に有意な差は認められなかった。一方、気道上皮細胞及び肺胞上皮細胞において、シングルセル及びバルクでの遺伝子発現解析において、SHFL 遺伝子、それと共役する PABPC1 遺伝子、LARP1 遺伝子を含む網羅的な遺伝子発現を追跡することができた。効率的に多段増殖するウイルス複製の場

合、既報のプラス鎖 RNA ウイルスのように、SHFL 遺伝子単独では、有意な影響を与えないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	酒井 宏治 (Sakai Kouji) (70515535)	国立感染症研究所・獣医科学部・主任研究官 (82603)	
研究分担者	鈴木 陽一 (Suzuki Youichi) (40432330)	大阪医科薬科大学・医学部・講師 (34401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関