

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月15日現在

機関番号：10101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22780268
 研究課題名（和文） ウイルス抵抗性遺伝子 OAS を介したフラビウイルス特異的感染防御機構の解析
 研究課題名（英文） Flavivirus-specific antiviral activity of 2' -5' -oligoadenylate synthetases
 研究代表者
 好井 健太郎（YOSHI KENTARO）
 北海道大学・大学院獣医学研究科・助教
 研究者番号：50421988

研究成果の概要（和文）：感染症に対する宿主側の自然免疫による防御機構において、オリゴアデニル酸合成酵素（OAS）は重要な働きを持つ。中でもげっ歯類の OAS 遺伝子ファミリーの Oas1b はフラビウイルス感染を特異的に防御する。本研究では、この Oas1b によるフラビウイルス特異的な感染防御機構を解析することで、OAS がフラビウイルスの感染時におけるウイルスの排除や病態形成に重要な役割を果たしていることを示した。

研究成果の概要（英文）：The interferon-inducible 2' -5' -oligoadenylate synthetases (OAS) play important roles in the antiviral activity against RNA virus infection. The murine isoform Oas1b gene has been identified as a critical determinant for genetic susceptibility to flavivirus infection. In this study, we analyzed the mechanism of the flavivirus-specific antiviral activity of Oas1b, and indicated that OAS plays crucial roles in the pathogenesis of flavivirus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、応用獣医学

キーワード：人獣共通感染症

1. 研究開始当初の背景

フラビウイルスには、人や畜産動物、野生動物に対して様々な病原性（脳炎、出血熱、肝炎 etc.）を示す人獣共通感染症の原因ウイルスが多く属している。近年、新興・再興感染症として世界各地でフラビウイルスの流行が多発しており、日本に侵入または流行する危険性が高くなってきているが、ウイルス感染に対する効果的な防御法は確立しておらず、流行した場合の被害の拡大が懸念さ

れている

オリゴアデニル酸合成酵素（OAS）は、ウイルス感染時などにインターフェロンによって誘導され、RNA 分解カスケードによりウイルスの排除を促進する。一方、げっ歯類の遺伝子上にはフラビウイルス感染に対して特異的に働く感染抵抗性遺伝子があり、近年、これが OAS 遺伝子ファミリーの Oas1b であることが同定された。

しかし、実験用近交系マウスの多くは

Oas1b に変異による欠損があり、この機構を解析するのが困難であった。そこで我々は完全な Oas 遺伝子座を持つコンジェニックマウスを作製してきた。

2. 研究の目的

(1) Oas1b を介したフラビウイルス特異的な感染抵抗性に関わるフラビウイルスのウイルス側因子及び宿主因子を明らかにする。

(2) Oas1b を介したフラビウイルス特異的な感染抵抗性が、自然界における伝播やウイルスの病態発現機序に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

野生マウス由来 Oas1b 遺伝子導入コンジェニックマウス (B6. MSM-Oas) にダニ媒介性脳炎ウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ウエストナイルウイルス等のフラビウイルスを皮下接種・及び脳内接種し、臨床症状や死亡率、体内の臓器におけるウイルス増殖、Oas 関連遺伝子の発現量、病理学的変化などを、B6 マウスの成績と比較解析した。

4. 研究成果

(1) フラビウイルス末梢感染時の病態解析
B6. MSM-Oas 各種フラビウイルスを皮下接種した所、全ての個体が生存した。しかし Oas1b 遺伝子に欠損を持つ B6 マウスでは接種後高い病原性を示したため、コンジェニックマウスでは Oas1b 遺伝子を介したフラビウイルス特異的な抵抗性が示すことが明らかになった。

(2) フラビウイルス中枢感染時の病態解析
①ダニ媒介性脳炎ウイルスについて、ヒト脳炎患者由来株である Sofjin 株と犬血液より分離された Oshima 株を脳内接種で B6. MSM-Oas マウスに感染させた所、Oshima 株では一過性の体重減少を示した後回復したのに対して、Sofjin 株では神経症状を伴う脳炎を引き起こし死亡し、Oas1b によるフラビウイルス抵抗性が株間で異なる事が示唆された (図 1.)。

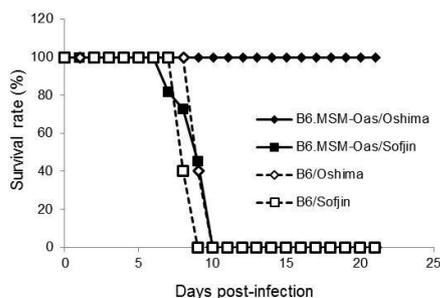


図 1. TBEV 感染時の生存率

②B6. MSM-Oas マウスにおいて Oshima 株は感染後 Oas1b が発現するとともにウイルス量が減少していたが、Sofjin 株感染時では Oas1b は同様に発現していたがウイルス量は全く減少していなかった (図 2)。

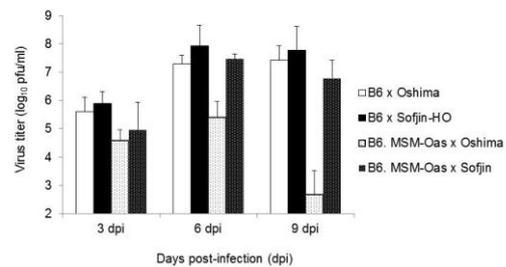


図 2. 脳内での TBEV の増殖量

③病理組織解析において、Oshima 株感染 B6. MSM-Oas では炎症反応は認められたものの、ウイルス抗原はほとんど検出されず、また神経細胞の変性・壊死も目立たなかった。しかし、Sofjin 株感染では神経細胞の変性・壊死とともに多数のウイルス抗原が検出され、これが死に至った要因だと考えられた。

Sofjin, Oshima 両株のアミノ酸配列の相同性は 98%以上あることから、B6. MSM-Oas マウスにおける病原性の相違に関わるアミノ酸配列を同定することにより、Oas1b を介したフラビウイルス特異的な感染抵抗性に関わる分子メカニズムの解明につながるものと期待される。

以上の結果から、Oas1b によるフラビウイルス抵抗性には株間で相違があることが明らかになり、これが実際の人における感染時の病態とも関連していることが示唆された。

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 18 件)

- ① Yoshii K, Igarashi M, Ichii O, Yokozawa K, Ito K, Kariwa H, Takashima I “The Conserved Region in the PrM Protein Is a Critical Determinant in the Assembly of Flavivirus Particles.” J Gen Virol. 93: 27-38. 2012 (査読有)
- ② Kariwa H, Yoshii K, Takashima I (他 11 名. 13 番目) “Isolation and characterization of hantaviruses in far East Russia and etiology of hemorrhagic Fever with renal syndrome in the region.” Am J Trop Med Hyg

- 86:545-553. 2012 (査読有)
- ③ Kariwa H, Yoshii K, Takashima I (他 15 名. 15 番目) “Genetic diversity of hantaviruses in Mexico: Identification of three novel hantaviruses from Neotominae rodents.” *Virus Res* 163: 486-494. 2012 (査読有)
- ④ Seto T, Yoshii K, Kariwa H (他 8 名. 9 番目) ” Infection of Hantaan virus strain AA57 leading to pulmonary disease in laboratory mice.” *Virus Res* 163: 284-290. 2012 (査読有)
- ⑤ Omori-Urabe K, Yoshii K, Ikawa-Yoshida A, Kariwa H, Takashima I “Needle-Free Jet Injection of DNA and Protein Vaccine of the Far-Eastern Subtype of Tick-Borne Encephalitis Virus Induced Protective Immunity in Mice.” *Microbiol Immunol.* 55: 893-897. 2011 (査読有)
- ⑥ Totani M, Yoshii K, Kariwa H, Takashima I “Glycosylation of the Envelope Protein of West Nile Virus Affects its Replication in Chicks” *Avian Diseases.* 55: 561-568. 2011 (査読有)
- ⑦ Takano A, Yoshii K, Omori-Urabe Y, Yokozawa K, Kariwa H, Takashima I “Construction of a replicon and an infectious cDNA clone of the Sofjin strain of the Far-Eastern subtype of tick-borne encephalitis virus.” *Arch Virol.* 156: 1931-1941. 2011 (査読有)
- ⑧ Sanada T, Kariwa H, Yoshii K (他 6 名. 8 番目) “Puumala virus infection in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) resembling hantavirus infection in natural rodent hosts.” *Virus Res.* 160: 108-119. 2011 (査読有)
- ⑨ Yoshii K, Igarashi M, Ito K, Kariwa H, Holbrook MR, Takashima I “Construction of an infectious cDNA clone for Omsk hemorrhagic fever virus, and characterization of mutations in NS2A and NS5.” *Virus Res.* 155: 61-68. 2011 (査読有)
- ⑩ Yoshii K, Kariwa H, Takashima I (他 12 名. 1 番目) “Epizootiological Study of Tick-Borne Encephalitis Virus Infection in Japan.” *J Vet Med Sci.* 73: 409-12. 2011 (査読有)
- ⑪ Murata R, Hashiguchi K, Yoshii K, Kariwa H, Nakajima K, Ivanov LI, Leonova GN, Takashima I “Seroprevalence of West Nile Virus in Wild Birds in Far Eastern Russia Using a Focus Reduction Neutralization Test.” *Am J Trop Med Hyg.* 84: 461-465. 2011 (査読有)
- ⑫ Ikawa-Yoshida A, Yoshii K, Kuwahara K, Obara M, Kariwa H, Takashima I “Development of ELISA system for tick-borne encephalitis virus infection in rodents.” *Microbiol Immunol.* 55: 100-107. 2011 (査読有)
- ⑬ Seto K, Yoshii K, Kariwa H (他 17 名. 15 番目) “An Efficient in vivo Method for THE Isolation OF PUUMALA VIRUS IN SYRIAN Hamsters and the Characterization of the isolates from Russia.” *J Virol Methods.* 173: 17-23. 2011 (査読有)
- ⑭ 好井健太朗, 持館景太, 苅和弘明, 高島郁夫「日本国内におけるダニ媒介性脳炎の血清疫学調査」*獣医畜産新報* 64:801-803. 2011 (査読無)
- ⑮ 苅和宏明, 好井健太朗, 高島郁夫「ダニ媒介性脳炎」*公衆衛生* 75: 36-38. 2011 (査読無)
- ⑯ Murata R, Yoshii K, Takashima I (他 7 名. 7 番目)” Glycosylation of the West Nile Virus envelope protein increases in vivo and in vitro viral multiplication in birds.” *Am J Trop Med Hyg* 82: 696-704. 2010 (査読有)
- ⑰ 好井健太朗, 苅和宏明, 高島郁夫「ダニ媒介性脳炎」*北海道獣医師会雑誌* 54:2-7 2010 (査読無)
- ⑱ 村田亮, 好井健太朗, 苅和宏明, 高島郁夫「ウエストナイルウイルスの鳥類における増殖性と極東ロシアでの抗体調査」*獣医畜産新報* 63:208-9. 2010 (査読無)
- [学会発表] (計 4 2 件)
- ① 好井健太朗, 寸田祐嗣, 横澤香菜, 苅和宏明, Michael R. Holbrook, 高島郁夫: ダニ媒介性脳炎/オムスク出血熱のキメラウイルスを用いた病態発現機序の解析: 第 15 回日本神経ウイルス研究会、金沢 (2011. 5. 19)
- ② 好井健太朗, 森藤可南子, 永田典代, 浅野淳, 佐々木宣哉, 苅和宏明, 安居院高志, 高島郁夫: 野生マウス由来 *Oas* 遺伝子座導入コンジュニックマウスの作製とフラビウイルス抵抗性の解析: 第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、金沢 (2011. 5. 20)

- ③ Yoshii, K., Sunden, Y., Yokozawa, K., Kariwa, H., Holbrook, M.R. and Takashima, I.: CONSTRUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHIMERIC VIRUS BETWEEN TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS AND OMSK HEMORRHAGIC FEVER VIRUS: International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. Sapporo (2011. 9. 15)
- ④ Yamazaki, S., Yoshii, K., Mottate, K., Murata, R., Sanada, T., Kariwa, H. and Takashima, I.: ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS IN HOKKAIDO, JAPAN IN 2008: International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. Sapporo ((2011. 9. 15)
- ⑤ Yanagihara, N., Yoshii, K., Goto, A., Ikawa, A., Ishizuka, M., Kariwa, H. and Takashima I.: ROLE OF THE N-LINKED GLYCAN OF ENVELOPE PROTEIN OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS IN THE VIRUS REPLICATION AND PATHOGENICITY: International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. Sapporo ((2011. 9. 15)
- ⑥ Yoshii, K., Sunden, Y., Yokozawa, K., Kariwa, H., Holbrook, M.R. and Takashima, I.: CONSTRUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHIMERIC VIRUS BETWEEN TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS AND OMSK HEMORRHAGIC FEVER VIRUS: The 3rd International Young Researcher Seminar in Zoonosis Control 2011. Sapporo (2011. 9. 16)
- ⑦ 山崎翔子、好井健太郎、真田崇弘、荻和宏明、高島郁夫：2008年北海道で分離されたダニ媒介性脳炎ウイルス Oshima 08-AS 株の病原性解析：第152回日本獣医学会、大阪(2011. 9. 19)
- ⑧ 好井健太郎、森藤可南子、永田典代、佐々木宣哉、荻和宏明、安居院高志、高島郁夫：野生マウス由来 *Oas* 遺伝子座導入コンジュニックマウスにおけるダニ媒介性脳炎ウイルスの神経病原性の解析：第152回日本獣医学会、大阪(2011. 9. 19)
- ⑨ 柳原なつみ、好井健太郎、石塚万里子、荻和宏明、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎ウイルスのE蛋白糖鎖は哺乳動物細胞におけるウイルス粒子分泌に影響する：第152回日本獣医学会、大阪(2011. 9. 19)
- ⑩ 好井健太郎、山崎翔子、持舘景太、荻和宏明、高島郁夫：2008年北海道におけるダニ媒介性脳炎ウイルスの分離と性状解析：第11回人と動物の共通感染症研究会学術集会、東京(2011. 11. 5)
- ⑪ 境瑞紀、好井健太郎、高野絢子、大森優紀、横澤香菜、荻和宏明、高島郁夫：リバーシージェネティクスを用いた極東型ダニ媒介性脳炎ウイルスの病原性決定因子の解析：第18回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会(2011. 11. 11)
- ⑫ 好井健太郎、寸田祐嗣、荻和宏明、Michael R. Holbrook、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎／オムスク出血熱のキメラウイルスの作成と性状解析：第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会、東京(2010. 5. 28)
- ⑬ 山崎翔子、好井健太郎、持舘景太、村田亮、真田崇弘、荻和宏明、高島郁夫：2008年北海道におけるダニ媒介性脳炎ウイルスの分離と性状解析：第150回日本獣医学会、帯広(2010. 9. 16)
- ⑭ 柳原なつみ、好井健太郎、後藤明子、伊川綾恵、石塚万里子、荻和宏明、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎ウイルスのE蛋白の糖鎖付加がウイルス性状に与える影響：第150回日本獣医学会、帯広(2010. 9. 16)
- ⑮ 高野絢子、大森優紀、好井健太郎、横澤香菜、荻和宏明、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎ウイルス Sofjin 株の感染性 cDNA の構築：第150回日本獣医学会、帯広 2010. 9. 16)
- ⑯ 好井健太郎、寸田祐嗣、荻和宏明、Michael R. Holbrook、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎／オムスク出血熱のキメラウイルスの作成と性状解析：第150回日本獣医学会、帯広(2010. 9. 16)
- ⑰ 好井健太郎、持舘景太、大森優紀、千葉裕美子、真田崇弘、瀬戸隆弘、前田純子、小原真弓、安藤秀二、伊藤直人、杉山誠、佐藤浩、福島博、荻和宏明、高島郁夫：日本国内におけるダニ媒介性脳炎の血清疫学調査：第10回人と動物の共通感染症研究会学術集会、東京(2010. 10. 30)
- ⑱ 高野絢子、大森優紀、好井健太郎、横澤香菜、荻和宏明、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎ウイルス Sofjin 株の感染性 cDNA の構築：第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島(2010. 11. 7)
- ⑲ 好井健太郎、寸田祐嗣、荻和宏明、Michael R. Holbrook、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎／オムスク出血熱のキメラウイルスの作成と性状解析：第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島(2010. 11. 7)
- ⑳ 戸谷理詩、好井健太郎、村田亮、秋田紗希、田中智久、荻和宏明、梅村孝司、高島郁夫：ウエストナイルウイルスのE蛋白糖鎖付加が鳥類における病原性に与える影響の解析：第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島(2010. 11. 7)
- [図書] (計2件)
- ① Yoshii, K., Kariwa, H., Takashima, I. "Tick-borne flavivirus" **Animal**

viruses. Transworld research network.
75-88. 2010

- ② Kariwa, H., Yoshii, K., Takashima I.
(他 9 名.9 番目) “Epidemiology of
hantavirus infection: Hokkaido virus
and its mode of infection among the
gray red-backed vole, *Myodes
rufocanus*” Animal viruses.
Transworld research network. 23-46.
2010

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計0件)
○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

好井 健太郎 (YOSHI KENTARO)
北海道大学・大学院獣医学研究科・助教
研究者番号：50421988

(2) 研究協力者

高島 郁夫 (TAKASHIMA IKUO)
北海道大学・大学院獣医学研究科・名誉教
授
研究者番号：30002083

菊和 宏明 (KARIWA HIROAKI)
北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授
研究者番号：70224714

安居院 高志 (AGUI TAKASHI)
北海道大学・大学院獣医学研究科・教授
研究者番号：00212457