

令和 6 年 5 月 11 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15453

研究課題名（和文）デルタウイルス複製機構の解明

研究課題名（英文）Clarification of mechanism for delta virus replication

研究代表者

岩本 将士（Iwamoto, Masashi）

名古屋大学・理学研究科・招へい教員

研究者番号：40825882

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）：デルタウイルスの感染複製機構の理解は十分ではない。近年我々は複数の新規デルタウイルスを同定しており、これらはヒトを含める複数の動物由来細胞株で複製増殖する。本研究では、これらデルタウイルスに対して広範に抗ウイルス活性を示すISGファミリーを同定した。また新規デルタウイルスの感染性粒子形成に関わるヘルパー因子は不明であったが、本研究でトリ由来細胞株で発現する遺伝子がトリデルタウイルスの感染性粒子形成に必要なことを明らかにした。これら知見はデルタウイルスの感染分子機構を理解し、これを防御するために非常に重要な知見となると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ウイルスは通常感染した宿主の一部を利用して増殖するが、デルタウイルスはそれに加えて他のウイルスを自身の感染複製に利用するユニークな生存戦略を持つ。しかし、デルタウイルス間で利用するウイルスを共通しておらず、これはそれぞれのデルタウイルスが進化の過程で最適なヘルパーとなるウイルス/因子を選択して進化した可能性を示す。また、近年報告された新規デルタウイルスがヒトに感染するという報告はまだ無いが、ヒト由来の培養細胞株で複製増殖能を示すことより、将来的にヒトに伝播しパンデミックを引き起こす可能性は否定できない。本研究の知見が新型デルタウイルスがヒトに伝播した際の防御戦略を確立する一助となると期待する。

研究成果の概要（英文）：Machinery for entry and replication of deltavirus (DeV) into the host cells have been largely unknown. We recently reported novel deltaviruses, which can replicate in some of the cell lines including human-derived cells. Here, we identified the interferon-stimulated gene (ISG) and its family can inhibit replication of deltaviruses. Helper factors involved in the formation of infectious particles of the newly identified deltaviruses were unknown. In this study, we revealed that genes expressed in avian-derived cell lines are necessary for the formation of infectious particles of the *Taeniopygia guttata* deltavirus. These findings are expected to be crucial for understanding the infection molecular mechanism of the deltavirus and for developing a strategy for defense against it.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HDV デルタウイルス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

D型肝炎ウイルス(HDV)はB型肝炎ウイルス(HBV)のエンベロープタンパク質を使用して宿主への感染する。HBV・HDVの感染受容体であるNTCPは主に肝臓に発現しているために、HBV・HDVはヒト肝臓特異的に感染すると考えられてきた。最近、HDVはHBV以外のエンベロープタンパク質を利用してウイルス粒子を形成することが報告され、これによりヒト肝臓以外の細胞株;例えばデングウイルス(DENV)のエンベロープタンパク質を纏い、蚊細胞へ感染すると報告された。加えて興味深いことに、HBV抗原・抗体陰性のシェーグレン症候群患者の唾液腺組織よりHDV RNAが検出された例も報告されている。これら知見はHDVが幅広い種・組織で複製が可能であり、HBVに限らない複数のウイルスエンベロープタンパク質を利用することで伝播増殖している可能性を示唆する。しかしHDVの複製機構、特にどのような宿主因子との相互作用がウイルス複製に必須かについてはほとんど明らかとなっていない。

### 2. 研究の目的

HDVを含むデルタウイルスは、宿主機構の利用だけでは自身のウイルス生活環を再現できない。HDVのゲノムは全長約1700塩基と小さく、1-2つしかウイルスタンパク質をコードしないにも関わらず、免疫応答から逃れ、宿主因子を利用し、他ウイルスタンパク質を獲得する。しかし、これら分子機序は明らかではない。申請者はHDVと近縁の新型デルタウイルスを複数同定している。本研究ではHDV宿主の相互作用の解析に加え、新型デルタウイルスとの比較解析により、デルタウイルスの複製伝播機構を明らかにする。本研究の実施により、デルタウイルスが宿主との相互作用に加えて、如何にして他ウイルスを自身の複製伝播に利用しているかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### A) デルタウイルス複製を阻害するインターフェロン誘導因子の解析.

HDVは感染複製により宿主の自然免疫、特にインターフェロン(IFN)経路を活性化させる。興味深い事に、感染の初期過程ではIFNによるHDVへの抗ウイルス効果を確認できるが、HDV複製が始まるとその効果は限定的となる。これはデルタウイルスとIFN誘導因子(ISG)との攻防による現象と推察されるが、これまでにHDV感染複製を阻害するISGの報告はない。本研究では、先行研究で得たHDV複製を阻害するISGの抗ウイルス活性を新規デルタウイルスで評価する。

#### B) デルタウイルスの新規ヘルパータンパク質の同定.

HDVがHBVエンベロープタンパク質を獲得するのに必要なDAg上の配列領域は既に明らかとなっており、他のデルタウイルスはこの領域配列を有していない。最近、HDVはHBV以外のC型肝炎ウイルス(HCV)、デングウイルス(DENV)等のエンベロープタンパク質を獲得することが報告されたが、その分子機構については不明である。本研究ではまず、新規デルタウイルスがヘルパーとして利用するタンパク質を明らかにし、デルタウイルスがヘルパーを獲得する分子機序の理解を押し進める。

### 4. 研究成果

A) 最近報告した2種類の新規デルタウイルス *Taeniopygia guttata* deltavirus (tgDeV)、*Marmota monax* deltavirus (mmDeV)の細胞内複製を再現可能なプラスミドベースリバースジェネティクスシステムを構築した。これを用いて、HDVに対して抗ウイルス活性を有するISG発現プラスミドを導入し、それぞれのウイルス複製をウイルスRNAおよびタンパク質の酸性をそれぞれRT-リアルタイムPCR、免疫蛍光法で評価した。ISGの発現に伴い、tgDeV、mmDeV共にウイルスRNA、タンパク質量が低下したことより、このISGはこれらデルタウイルスの複製を低下させる。このISGはファミリータンパク質が複数あることが報告されている。それらのうち2種類のファミリータンパク質を選択して、同様にデルタウイルス複製への効果を評価した。ISGファミリータンパク質もHDV、tgDeV、mmDeVの複製レベルを低下させた。これら結果は着目したISGおよびそのファミリーはデルタウイルスに対して広範に抗ウイルス活性を有することを示す。

B) tgDeVおよびmmDeVはHDV同様にヒト由来細胞株での複製能を示す。このうちtgDeVはトリ由来の細胞株でより高い複製能を示した。興味深いことに、あるトリ由来細胞株(細胞株A)では複製したtgDeVが細胞外で検出された。この培養上清をウイルスが感染していない細胞株Aに処理したところ、tgDeV陽性細胞が検出された。これはtgDeVは細胞株Aで感染性粒子を形成することを示す。一方でtgDeV感染性粒子の酸性は別のトリ由来細胞株(細胞株B)では観察されなかったことより、細胞株Aで特異的に発現している遺伝子がヘルパーとして機能している可能性が考えられた。細胞株AとBでトランスクリプトーム解析を行い、細胞株Aで

特異的に発現する遺伝子を得た。この遺伝子を細胞株 B に発現させて、tgDeV の複製を評価したところ、培養上清でウイルス RNA が検出された。この培養上清をウイルスが感染していない細胞株 B に処理すると、tgDeV 陽性細胞が観察された。この結果は細胞株 A で特異的に発現していた遺伝子 A は tgDeV のヘルパーとして機能することを示す。

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 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Park JH, Iwamoto M, Yun JH, Uchikubo-Kamo T, Son D, Jin Z, Yoshida H, Ohki M, Ishimoto N, Mizutani K, Oshima M, Muramatsu M, Wakita T, Shirouzu M, Liu K, Uemura T, Nomura N, Iwata S, Watashi K, Tame JRH, Nishizawa T, Lee W, Park SY.	4. 巻 606
2. 論文標題 Structural insights into the HBV receptor and bile acid transporter Ntcp	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 1027-1031
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41586-022-04857-0	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

1. 著者名 Chisa Kobayashi, Yoshihiro Watanabe, Mizuki Oshima, Tomoyasu Hirose, Masako Yamasaki, Masashi Iwamoto, Masato Iwatsuki, Yukihiro Asami, Kouji Kuramochi, Kousho Wakae, Hideki Aizaki, Masamichi Muramatsu, Camille Sureau, Toshiaki Sunazuka, Koichi Watashi	4. 巻 14
2. 論文標題 Fungal Secondary Metabolite Exophillic Acid Selectively Inhibits the Entry of Hepatitis B and D Viruses.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 764
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/v14040764.	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 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masashi Iwamoto
2. 発表標題 Identification and characterization of novel deltaviruses provides new insights into deltavirus evolution
3. 学会等名 8th JAPAN-TAIWAN-KOREA HBV Research Symposium 2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------