

令和 5 年 4 月 10 日現在

機関番号：12501

研究種目：奨励研究

研究期間：2022～2022

課題番号：22H04368

研究課題名 新型コロナウイルスとA型インフルエンザウイルス間のウイルス干渉分子機構の解明

研究代表者

青木 友那 (Aoki, Yuna)

千葉大学・真菌医学研究センター・大学職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）RNAからNucleocapsid protein（N）をクローニング、N強制発現細胞を作製し、この細胞にA型インフルエンザウイルス（IAV）を感染させた。その結果、N強制発現細胞ではウイルス感染に伴うI型インターフェロン（IFN）応答及びストレス顆粒様の凝集体（avSG）形成の抑制が生じることが明らかとなった。更に、Nは宿主細胞内のプロテインキナーゼR（PKR）と直接的に会合し、PKRの活性化を抑制することによってIFN応答やavSG形成を抑制していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然界にはSARS-CoV-2の他に多くのウイルスが存在しており、SARS-CoV-2とこれらのウイルスが共存する環境を見据えると、呼吸器に感染するウイルスの二重感染に関する知見が求められる。そこで本研究ではSARS-CoV-2のNに着目し、SARS-CoV-2と同じく呼吸器に感染するウイルスであるIAVをN強制発現細胞へ感染させた。その結果、Nは宿主細胞内のPKRに直接的に結合することにより、感染初期のIFN産生及びavSG形成を抑制していることが示唆された。SARS-CoV-2感染は感染初期に自然免疫抑制機構が働くことが知られており、本研究の成果はその抑制機構解明の一助となる。

研究分野：免疫学

キーワード：新型コロナウイルス A型インフルエンザウイルス ウイルス感染 自然免疫

1. 研究の目的

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)感染症は世界に多数の死者をもたらし、震撼させた。今後、当該感染症収束後に想定される「SARS-CoV-2 と他のウイルスが共存する環境」を見据えると、呼吸器に感染するウイルスの二重感染に関する知見の構築が急務である。そこで本研究では、SARS-CoV-2 の Nucleocapsid protein (N) に注目し、SARS-CoV-2 と同様に呼吸器に感染するウイルスである A 型インフルエンザウイルス (IAV) を例に、これらウイルスの二重感染における抗ウイルス分子機構を解明することを目的とし研究を行った。

2. 研究成果

ウイルスタンパク質発現細胞の作製及び表現型の観察

SARS-CoV-2 の増殖に必須な N をウイルス RNA からクローニングし、発現プラスミドを作製した。このプラスミドを細胞に強制発現させ、呼吸器に感染する代表的なウイルスとして A 型インフルエンザウイルス (IAV) を感染させた際の表現型を Luciferase assay 法及び免疫染色法を用いて観察した。

その結果、N 強制発現細胞において、ウイルス感染初期の応答として観察される I 型インターフェロン (IFN) 産生及びストレス顆粒様の凝集体 (anti-viral stress granule: avSG) 形成が強く抑制された。

N が IFN シグナルへ与える影響の解析

の結果より、N が IFN 産生シグナルに影響を与えていることが示唆されたため、N 強制発現細胞内での細胞内シグナルの変化をウェスタンブロットング法を用いて解析した。その結果、N はウイルス感染に伴って活性化するプロテインキナーゼ R (PKR) のリン酸化を強く抑制していることが明らかとなった。なお、宿主細胞内の PKR の発現量には変化が見られなかった。

N 及び PKR の会合の同定

の結果より、N がどのように PKR の活性化を抑制しているのかが明らかにするため、N と会合するタンパク質を免疫沈降法を用いて解析した。

その結果、N は PKR と直接的に会合していることが明らかとなった。

以上の結果から、N は宿主細胞の PKR に結合することにより直接的に PKR のリン酸化を抑制しており、結果として IAV 感染時に PKR の下流で生じる avSG 形成や IFN 産生が抑制されることが示唆された。したがって、SARS-CoV-2 の N が宿主細胞に発現している状況では PKR が抑制されており、IAV が感染しても十分な抗ウイルスシグナルが機能しないことが明らかとなった。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 青木 友那 |
| 2. 発表標題 SARS-CoV-2 Nタンパク質によるPKRを介したインターフェロン産生抑制機構 |
| 3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yuna Nishi-Aoki |
| 2. 発表標題 SARS-CoV-2 Nucleocapsid protein inhibits anti-viral stress granules formation and Type I/III interferon production via binding to PKR. |
| 3. 学会等名 感染症研究グローバルネットワークフォーラム 2022（国際学会） |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

| 氏名 | ローマ字氏名 |
|----|--------|
|----|--------|