博 士（獣医学） 森 藤 可南子

学 位 論 文 題 名

Study on the mechanism of resistance to flaviviruses of oligoadenylate synthetase 1b (Oas1b) in mice

（マウスにおけるオリゴアデニル酸合成酵素1b (Oas1b) の
フラビウイルス抵抗性機構に関する研究）

学位論文内容の要旨

1型インターフェロン（IFN）は病原体の侵入時、IFN活性化遺伝子群（ISG）を細胞に発現させることで細胞に抗病原体状態を引き起こす自然免疫機構において重要なサイトカインである。ISGは何百種類も存在することが知られているが、機能が明らかとなっているものは多くない。このうちウイルス感染時に機能する、*Mx* (myxovirus resistance gene)および *Oas* (oligoadenylate synthetase) はよく研究されている遺伝子である。

マウスにおいて、*Mx1*および*Oas1b*は、それぞれオルソミクソウイルス感染抵抗性遺伝子、フラビウイルス感染抵抗性遺伝子として知られている。感染実験で多用される実験用近交系マウスにおいては、*Mx 1*および*Oas1b*に欠損や点突然変異が存在し、これらのウイルス感染に対して感受性を示す。一方、野生由来近交系マウスにおいては*Mx 1*および*Oas1b*の機能の保存が報告されている。

本研究では、日本で近交系化された野生由来近交系マウス MSM/Ms(MSM)と一般的に使用されるC57BL/6J(B6)をもちいて、MSM由来*Mx*遺伝子座を持つ*Mx*コンジェニックマウス、およびMSM由来*Oas*遺伝子座を持つ*Oas*コンジェニックマウスを作製し、インフルエンザウイルスおよびウエストナイルウイルス(WNV)の感染実験を行い、MSM由来*Mx*遺伝子座及び*Oas*遺伝子座の抗ウイルス効果を検討した。感染実験の結果、*Mx*コンジェニックマウスはインフルエンザウイルスに、*Oas*コンジェニックマウスはWNVに特異的に抵抗性を示すことが明らかとなった。このことから、マウスMx1はインフルエンザウ

イルスに対して、マウスOas1bはWNVに対して特異的に感染防御を行う因子であることが示唆された。この結果をもとに、マウスOas1bのフラビウイルス感染防御における役割に着目することとした。

Oasは、2'-5' oligoadenylate (2-5A) 合成酵素である。2-5Aは、潜在性RNaseLを活性化させウイルスおよび宿主のRNAを分解し宿主細胞の抗ウイルス状態を引き起こす。マウスOas1bは2-5A合成酵素活性が欠損していることから、既知のOasとは異なる機構でフラビウイルス感染防御を行うと考えられるが、その機序はほとんど解明されていない。

本研究では、分泌型アルカリホスファターゼ(SEAP)をレポーター遺伝子とするWNVレプリコンの作製と、MSMおよびB6由来Oas1b安定発現細胞を作製し、Oas1bのウイルス複製抑制効果を検討した。

興味深いことに、MSM由来Oas1bのみならずB6由来Oas1b安定発現細胞においても、WNVレプリコンの複製が抑制された。このことから、B6由来Oas1bはフラビウイルス複製抑制効果を保持しているものの、*in vivo*においては、mRNA上にナンセンス変異を持つため、mRNAの発現が誘導されてもナンセンス変異媒介性mRNA分解機構によって蛋白質の発現が得られず、フラビウイルス感染防御を行えないことがB6マウスのフラビウイルス感受性の原因であることが推論された。

学位論文審査の要旨

主　査　教　授　安居院　高　志
副　査　教　授　大　橋　和　彦
副　査　准教授　苅　和　宏　明
副　査　准教授　佐々木　宣　哉

学位論文題名

Study on the mechanism of resistance to flaviviruses of oligoadenylate synthetase 1b (Oas1b) in mice

(マウスにおけるオリゴアデニル酸合成酵素1b (Oas1b) の フラビウイルス抵抗性機構に関する研究)

I型インターフェロン (IFN) は病原体の侵入時、IFN活性化遺伝子群 (ISG) を細胞に発現させることで抗病原体状態を引き起こす自然免疫機構において重要なサイトカインである。ISGは何百種類も存在することが知られているが、機能が明らかとなっているものは多くない。マウスにおいて、*Mx1*及び*Oas1b*は、それぞれオルソミクソウイルス感染抵抗性遺伝子及びフラビウイルス感染抵抗性遺伝子として知られている。感染実験で多用される実験用近交系マウスにおいては、*Mx 1*及び*Oas1b*に欠損や点突然変異が存在し、これらのウイルス感染に対して感受性を示す。一方、野生由来近交系マウスにおいては*Mx1*及び*Oas1b*の機能の保存が報告されている。

申請者は、日本で近交系化された野生由来近交系マウス MSM/Ms (MSM)と実験用マウス標準近交系であるC57BL/6J (B6)を用いて、MSM由来*Mx*遺伝子座を持つ*Mx*コンジェニックマウス、及びMSM由来*Oas*遺伝子座を持つ*Oas*コンジェニックマウスを作製し、インフルエンザウイルス及びウエストナイルウイルス(WNV)の感染実験を行い、MSM由来*Mx*遺伝子座及び*Oas*遺伝子座の抗ウイルス効果を検討した。感染実験の結果、*Mx*コンジェニックマウスはインフルエンザウイルスに、*Oas*コンジェニックマウスはWNVに特異的に抵抗性を示すことが示され、これらのコンジェニックマウスは上記ウイルスに対して正常な防御機構を有することから有用な感染モデル系となることが示された。

申請者は次に、マウスOas1bのフラビウイルス感染防御機構について解析を行った。Oasは、2'-5' oligoadenylate (2-5A) 合成酵素であり、産生された2-5Aが潜在性RNA分解酵素RNase Lを活性化させ、ウイルス及び宿主のRNAを分解し宿主細胞の抗ウイルス

状態を引き起こすことが知られている。マウス Oas1b は 2-5A 合成酵素活性が欠損していることから、既知の Oas とは異なる機構でフラビウイルス感染防御を行うと考えられるが、その機序はほとんど解明されていない。申請者は、分泌型アルカリホスファターゼ（SEAP）をレポーター遺伝子とする WNV レプリコンと MSM および B6 由来 Oas1b 安定発現細胞株を作製し、Oas1b のウイルス複製抑制効果を検討した。その結果、MSM 由来 Oas1b のみならず B6 由来 Oas1b 安定発現細胞においても、WNV レプリコンの複製が抑制された。このことから、B6 由来 Oas1b は短縮型タンパク質にも拘らずフラビウイルス複製抑制効果を保持していること、及び B6 マウス生体内においては、mRNA 上に存在するナンセンス変異のためナンセンス変異媒介性 mRNA 分解機構によってタンパク質の発現が極めて低下していることが、フラビウイルス感染防御能の欠損の原因であることが示唆された。

以上一連の研究成果は獣医学の分野において新しい知見を与えるものと判断された。よって、審査員一同は、上記博士論文提出者、森藤可南子氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規定第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。