HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on oligoadenylate synthetase as an innate immune factor against viral infection [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佐藤, 佳祐
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16159号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93826
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Keisuke_Sato_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：佐藤　佳祐
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Study on oligoadenylate synthetase as an innate immune factor against viral infection.
（ウイルス感染に対する自然免疫因子としてのオリゴアデニレート合成酵素に関する研究）

オリゴアデニレート合成酵素(OAS)は RNA ウイルスの感染により誘導される自然免疫系を担うタンパク質の一つであり、ATP からオリゴアデニレートを合成し、最終的に RNase L の活性化や IFN の誘導が行われることが知られている。OAS は外来 RNA を認識するセンサーであるだけではなく、IFN の誘導を増幅させることにより外来 RNA の除去におけるエンハンサーとしての役割を持つ。このオリゴアデニレート合成によるウイルス除去のほかに、OAS は RNase L に依存しないフラビウイルス複製阻害機能を持つことが報告されている。しかし、今までの報告ではオリゴアデニレート合成活性についてはよく調べられているものの、フラビウイルス複製阻害についてほとんど調べられていない。いくつかの動物種において、OAS 遺伝子は多重化しており OAS 分子ごとに合成酵素活性とフラビウイルス複製阻害機能の分離が生じている。そこで、本研究では OAS のウイルス排除における分子生物学的な側面と系統学的な分化について明らかにするため、鳥類における OAS ファミリーの多様性とマウス Oas1b のウエストナイルウイルスの認識部位について解析を行った。

OAS は様々な動物種がその類似する遺伝子を保有していることが報告されており、生物の進化の序盤で獲得された遺伝子であるといえる。しかし、OAS ファミリーを構成する遺伝子数は多様であり、マウスやラットは 12 種の OAS を持つが、ヒトやブタは 5 種のみである。今まで報告された遺伝子ではオリゴアデニレートを合成する酵素活性については詳細に調べられている一方、フラビウイルス複製阻害作用についてはほとんど報告されていない。鳥類の多くは１種類しか OAS を持たないことが報告されており、酵素活性とフラビウイルス複製阻害作用の両方の機能を持つことが報告されている。しかし、ダチョウのみが２種類の OAS を有しており、OAS1 が酵素活性のみを、OASL がフラビウイルス複製阻害作用のみを持ち合わせており、機能の分業化が行われている。マウスにおいても同様の機能の分業化が行われており、Oas1a、Oas1g は酵素活性のみを持ち、Oas1b がフラビウイルス複製阻害作用を持っている。このような OAS の多

重化及び機能の分離はその種の進化やとりまく環境への適応を考える点で非常に有益な知見をもたらしうる。

そこで第１章ではダチョウと近縁であるエミューに注目し、エミューの OAS ファミリーの配列決定及び機能解析を試みた。配列決定の結果、エミューは OAS1 と OASL の２種類を持つことが示された。また、そのアミノ酸配列の相同性はダチョウと比べ、OAS1 は 80%、OASL は 78%であった。また、機能に影響があるとされている領域に関してはほぼ一致していた。機能解析を行った結果エミューの OAS ファミリーはオリゴアデニレート合成酵素活性とフラビウイルス複製阻害の抗ウイルス機構を持ち、ダチョウと同様の特徴を持っていることが分かった。これらのことからエミューとダチョウは 1 種類の OAS 分子のみを有する大部分の鳥類とは異なる特徴を持つ存在であることが推定された。

実験室マウス系統がフラビウイルス感染に感受性があり、野生由来マウス系統は抵抗性であることから、フラビウイルス感染への感受性を定める遺伝子が存在することが示唆されており、その原因遺伝子として Oas1b が同定された。Oas1b により感受性が変化する病原体としてウエストナイルウイルス（WNV)、日本脳炎ウイルス（JEV)、黄熱ウイルス（YFV)などがあり、節足動物により媒介され、公衆衛生上問題となるウイルス群である。Oas1b の機能について調べられた結果、Oas1b はオリゴアデニレート合成酵素活性がなく、OAS/RNase L 経路とは異なる機構によりフラビウイルスゲノムの複製を阻害することが考えられているが、その機序は明らかになっていない。

第２章ではマウス Oas1b のフラビウイルス複製阻害作用の作用部位の解明を試みた。フラビウイルスのゲノム RNA の 3’側非翻訳領域にはフラビウイルス間で保存されている配列が存在している。この配列内にはステムループ構造が存在しており、RNA 分解酵素を RNA 分解中に停滞させることにより RNA 分解に抵抗性を持っている。これまでの報告から Oas1b が非翻訳領域に存在するステムループと相互作用することによりフラビウイルス複製阻害効果を発揮すると仮定し、WNV レプリコンの 3’側非翻訳領域に存在するステムループを構成する RNA 配列を除去することによる Oas1b のフラビウイルス複製阻害効果の影響を確認した。WNV レプリコンの 3’非翻訳領域に存在する SL2 を構成する配列を削除した WNV レプリコンの RNA を細胞にトランスフェクションした場合、Oas1b の存在下においても複製阻害は生じていなかった。このことから Oas1b が SL2 に作用することによりフラビウイルスの複製が阻害されることが考えられた。また、細胞内で SL2 を構成する RNA を過剰に発現させた場合、SL2 の濃度に依存して Oas1b によるフラビウイルス複製阻害の減弱が確認された。このことから、SL2 を構成する配列の RNA は Oas1b のフラビウイルス複製阻害作用を競合阻害することが可能であることを示している。Oas1b が SL2 に対して作用するメカニズムとして切断、分解、修飾などの変化を起こさせる未知の機能によりゲノムの複製を阻害していることが考えられる。また、今回 Oas1b の作用部位として示唆された SL2 は他のフラビウイルスにおいても Oas1b のターゲットとなっていることが考えられる。将来 Oas1b によるフラビウイルス抑制機構が明らかになることで、多くのフラビウイルスに効果的な新たな治療法の確立ができることを願っている。

結論として、今回の研究によりオリゴアデニレート合成酵素のウイルス防御に対する新たな知見を得ることに成功した。これらの結果は、生体のウイルス防御についての理解を向上させ、ウイルス感染症に対する制御に貢献するであろう。