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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：佐　藤　佳　祐

審査委員

主査	教授	木　村　享　史
副査	准教授	小　林　進　太　郎
副査	教授	森　松　正　美
副査	准教授	中　村　鉄　平

学位論文題名

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）

宿主は、病原体の感染に対して様々な自然免疫機構によって対抗することにより、生体恒常性を維持している。オリゴアデニレート合成酵素(OAS)は、細胞に侵入したウイルス由来二本鎖 RNA を認識して活性化され、ATP を重合してオリゴアデニル酸を合成することで RNA 切断タンパク質である RNase L を活性化し、ウイルス RNA を切断して排除する。

OAS は、無脊椎動物を含む多くの動物種において、それぞれ複数の遺伝子で構成される遺伝子ファミリーとして保有されている。*OAS* ファミリーを構成する遺伝子の種類は動物によって多様であり、マウスやラットは 12 種類の *Oas* を持つ。マウスの実験室系統と野生由来系統ではフラビウイルス感染感受性が異なり、この系統差の原因遺伝子として *Oas1b* が同定されたが、両系統の Oas1b タンパク質にオリゴアデニル酸合成活性がないことが判明した。また、マウスの RNase L をノックアウトしてもフラビウイルスの複製阻害が見られたことから、OAS/RNase L 経路とは異なるフラビウイルスゲノムの複製阻害機構が存在すると考えられているが、この複製阻害の具体的な機構は不明のままである。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、オリゴアデニル酸合成活性とフラビウイルス複製阻害の両方の機能を持つ。しかし、ダチョウのみが 2 種類の OAS を有し、OAS1 に酵素活性のみが、OASL にフラビウイルス複製阻害のみが確認され、*OAS* 遺伝子ファミリーの機能分担を解明する研究モデルとして期待されている。

本研究の第 1 章では、ダチョウと近縁であるエミューに注目して *OAS* を解析した

ところ、エミューは *OAS1* と *OASL* の 2 種類を持つことが示され、これらの遺伝子産物のアミノ酸配列はダチョウのものとそれぞれ高い相同性を示し、機能領域の配列は保存されていた。機能解析により、エミューの OAS1 ではオリゴアデニル酸合成活性が、OASL ではウエストナイルウイルス(WNV)レプリコンの複製阻害が認められ、ダチョウ由来のそれぞれの分子と同様の特徴が示された。これらより、2 種類の *OAS* を有して機能を分担するという特徴は、走鳥類であるエミューとダチョウに共通のものであることが判明した。

第 2 章では、オリゴアデニル酸合成活性を欠く OAS である実験室系統マウス由来の Oas1b に着目し、この分子のフラビウイルス複製阻害機構を解析した。各種のフラビウイルスで配列が保存されているゲノム RNA の 3'側非翻訳領域にはステムループ構造が存在するが、本研究では、このステムループ構造が Oas1b と相互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との仮説を立て、WNV レプリコンを用いて検証した。WNV レプリコンの 3'側非翻訳領域に存在する 2 番目のステムループ SL2 を構成する配列を除去したレプリコンを作製して細胞にトランスフェクションしたところ、Oas1b によるレプリコンの複製阻害は認められなかった。また、細胞に SL2 を構成する配列を導入して発現させると、Oas1b による複製阻害が SL2 濃度依存性に減弱した。

OAS の標的となり得るフラビウイルスには、WNV に限らず様々な感染症の病原体が含まれており、OAS 分子種の系統発生を明らかにすることは基礎的知見を蓄積するのみならず、広く動物の生体防御機構や感染病態を理解することを通じて獣医学の発展に貢献する可能性がある。本研究において、エミューとダチョウで共通するが他の鳥類に見られない OAS の特徴を解明したことは、自然免疫機構における OAS の研究で、鳥類のモデル動物としての価値を高めるものである。マウス Oas1b による WNV の複製阻害において標的となる配列が非翻訳領域の SL2 であることを本研究で突き止めたが、この配列は他のフラビウイルスにおいても保存されており、Oas1b による複製阻害機構の更なる解明が、フラビウイルスに効果的な新たな治療法の確立に貢献することが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者佐藤佳祐氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。