

## Type I IFN, Type III IFN における rotavirus 感染抑制効果

日大生産工 (院) ○佐藤 岳

日大歯 浅野 岳正 日大歯 小宮山 一雄

日大生産工 (日大院総科) 野呂 知加子

## 1. 緒言

ロタウイルスは世界中でみられる小児ウイルス性腸炎の原因の一つである。生後6ヶ月から2歳の乳幼児に多くみられ、主な症状として嘔吐と米のとぎ汁のような白色の下痢が特徴で、発熱を伴う場合が多く重症度が高い。潜伏期間は約2日で3~8日程度で治ることがほとんどであるが、途上国のアフリカ・東南アジアを中心に毎年600,000人の乳幼児が亡くなっている。ロタウイルスは1973年に見つかったウイルスでレオウイルス科に属し、2層のタンパク質の殻に覆われ、内部に11本の分節状2本鎖RNA(double-stranded RNA)ゲノムから成るウイルスで、直径は約70nmである。また、ロタウイルスは全て経口的に摂取され、小腸に到達すると絨毛突起先端部の上皮細胞で感染・増殖する。

ウイルスは細菌の様に自己で増殖せず、動物細胞をはじめ細菌、真菌等の生細胞に侵入し、感染細胞の代謝機能を借用して自己の複製を行っている。ヒトを含む高等動物は細菌やウイルスに対して自然免疫と獲得免疫の2種類の感染防御システムを備え持っており、両免疫系を協調的に働かせることで病原体から身を守っている。自然免疫ではウイルス感染に伴い、一連のシグナル伝達を通して炎症性サイトカインやインターフェロン(IFN)の産生が誘導される。近年、ロタウイルス感染は有意にType III IFN産生を誘導することが示された。この事実はヒト腸管上皮細胞であるHT-29を用いたin vitroの実験系でも確認され

ており、moi依存的にType III IFN産生量が増加することや、Type III IFNの方がType I IFNよりピーク時で最大10倍の産生量があるということが、我々の研究で明らかになっている(Fig.1, 2)。そこで、本実験では実際に、Type I IFNとType III IFNがロタウイルスの感染を抑制するかを検索した。

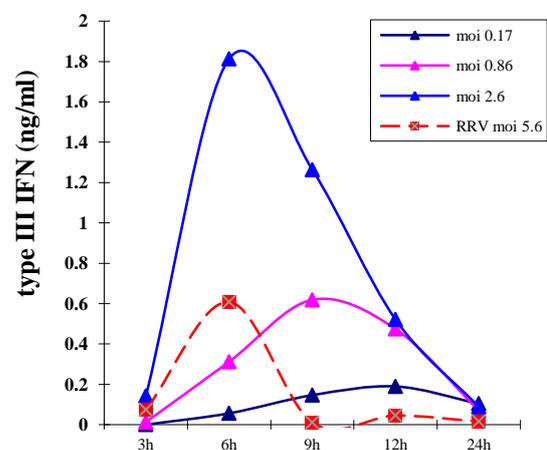


Fig.1 moi依存的にType III IFN産生量は増加する

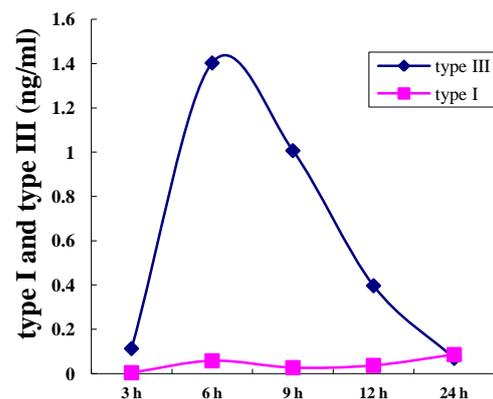


Fig.2 Type III IFNの方がType I IFNより最大で10倍の産生量がある

Evaluation of preventive effect of type I and type III IFN on rotavirus infection

Gaku SATO, Masatake ASANO, Kazuo KOMIYAMA and Chikako YOSHIDA-NORO

## 2. 実験

### 2.1 使用した細胞

本実験では、ヒト結腸線癌由来細胞株 HT-29、アカゲザル胎児腎細胞MA104を用いた。

### 2.2 Type I IFNとType III IFN

IFNは、ウイルス感染などで誘導される抗ウイルス活性のあるタンパク質である。Type III IFN(IFN- $\lambda$ )はIL-28A、IL-28B、IL-29の3つから成り、Type I IFNと共に抗ウイルス作用を行うと考えられている。

### 2.3 実験操作

#### 2.3.1 IFN 処理

MA104細胞を $2.0 \times 10^5$ /well 播種する際に、recombinant の Type I IFN と Type III IFN を加え18時間培養した。

#### 2.3.2 感染

細胞を洗浄し、無血清培地で30分間starvationを行い、ロタウイルス(SA11)を1時間感染させた。感染後、細胞を洗浄しさらに3時間培養した。

## 3.結果と考察

MA104細胞をType I IFN、Type III IFNで処理した後にSA11を感染させ、感染抑制効果をreverse transcriptase (RT)-PCRと蛍光免疫染色により検証した。RT-PCRの結果、Type I IFNの方がType III IFNより強い感染抑制を示した(Fig.3)。蛍光免疫染色においても同様の検証を行ったところ、Type I IFNでは明らかにロタウイルスの感染を抑制しており、Type III IFNでも感染抑制を認めることができた(Fig.4,5)。

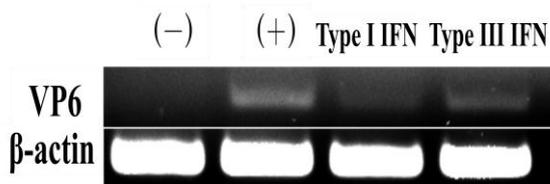


Fig.3 IFNの感染抑制効果(RT-PC)

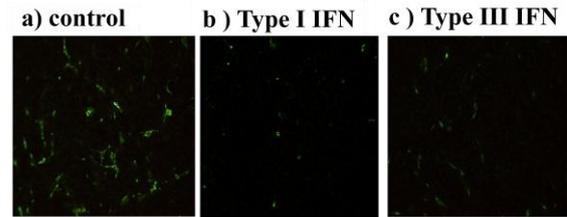


Fig.4 IFN の感染抑制効果(蛍光免疫染色)

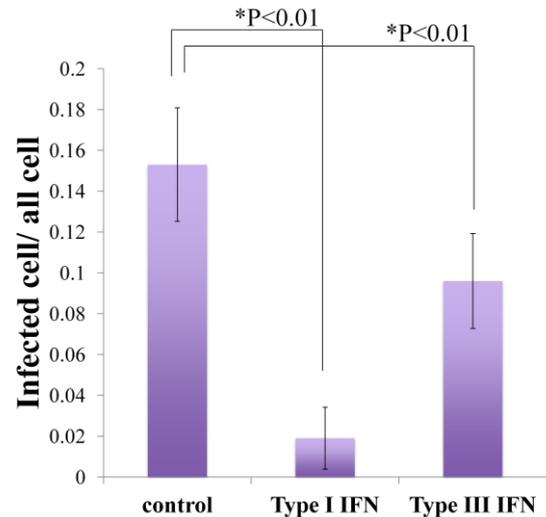


Fig.5 感染細胞数の割合(蛍光免疫染色)

## 参考文献

- 1) John Hiscott., “IFN- $\lambda$  determines the intestinal epithelial antiviral host defense” (2011)
- 2) Mario Barro and John T. Patton “Rotavirus nonstructural protein 1 subverts innate immune response by inducing degradation of IFN regulatory factor 3” (2005)
- 3) Alexis H. Broquet “RIG-I/MDA5/MAVS Are Required To Signal a Protective IFN Response in Rotavirus-Infected Intestinal Epithelium”(2011)
- 4) David E Levy “Induction and function of type I and III interferon in response to viral infection”(2011)
- 5) Marco Contoli “Role of deficient type III interferon- $\lambda$  production in asthma exacerbations”(2006)
- 6) Michelle M. Arnold “The Battle between Rotavirus and Its Host for Control of the Interferon Signaling Pathway”(2013)