

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	ムチン型糖鎖糖転移酵素によるインフルエンザウイルスの増殖抑制機構の解明				
研究テーマ (欧文) AZ	Analysis of transcription regulation of influenza A virus by UDP-GalNAc transferase				
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) トモナガ	名) ケイゾウ	研究期間 B	2011 ~ 2013 年
	漢字 CB	朝長	啓造	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Tomonaga	Keizo	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	京都大学ウイルス研究所・教授				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)	<p>インフルエンザウイルスによる健康被害は甚大であり、流行の経済的損失は計り知れない。しかしながら、インフルエンザウイルス感染に対する宿主応答機構や感染防御の仕組みについては、その多くが解明されていない。これまでに私たちは、A型インフルエンザウイルス（IAV）を感染させたヒト由来肺胞上皮細胞において、ムチン型糖鎖糖転移酵素である GALNT3 に対する miRNA の急激な発現低下と GALNT3 mRNA の顕著な発現上昇が認められることを明らかにした。GALNT3 によりムチン型糖鎖が付加される糖鎖には、IAV の受容体であるシアル酸も含まれる。また、蛋白質の正常なムチン型糖鎖の糖転移が細胞の自然免疫の誘導に重要であるとの報告も成されている。本研究では、miRNA を介した GALNT3 の発現上昇によるムチンの発現制御機構を明らかにするとともに、GALNT3 の IAV 増殖への関与を分子レベルで明らかにすることを目的とした。</p> <p>先ず、IAV 感染による GALNT3 発現動態とムチン型糖鎖修飾の変化を、初代気管上皮細胞を含む培養細胞系を用いて解析した。その結果、IAV 感染後 4.5 時間までに GALNT3 mRNA の顕著な発現上昇が確認された。また、GALNT3 の発現上昇には、IAV の細胞内での複製が必要であることが示された。GALNT3 の発現が認められた細胞では、ムチンの基質である MUC1 ならびに MUC5AC の発現上昇も明らかとなった。このことは IAV 感染細胞では、GALNT3 の制御を介した O 型糖鎖修飾が亢進していることを示している。一方、同定されていた miRNA が GALNT3 mRNA の 3 末端非翻訳領域への結合を介して、GALNT3 の発現を制御していることも明らかにした。</p> <p>さらに、GALNT3 の発現上昇が IAV 感染増殖に与える影響を、siRNA を用いて GALNT3 のノックダウン系により解析を行った。その結果、GALNT3 ノックダウン細胞では、核内での IAV の転写と細胞外への子孫ウイルス粒子の産生が顕著に低下することが示された。また、核内での IAV の複製活性を検出する IAV ミニゲノムシステムを用いた解析では、GALNT3 のノックダウンにより、ウイルスの転写活性が有意に減少することも明らかとなった。以上の結果は、GALNT3 の発現上昇を介した O 型糖鎖修飾変化が、核内での IAV の転写・複製に影響を与えていることを示している。現在、詳細な分子機構を追及するとともに、GALNT3 のノックアウトマウスを用いた解析を検討中である。本研究の成果は、O 型糖鎖修飾の制御による新しい抗インフルエンザウイルス薬の開発にも貢献できると考えられる。</p>				
キーワード FA	インフルエンザウイルス	ウイルス複製	ムチン	糖転移酵素	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Generation of Human Bronchial Epithelial Cell Lines Expressing Inactive Mutants							
	著者名 ^{GA}	Nakamura S et al	雑誌名 ^{GC}	Journal of Veterinary Medical Science					
	ページ ^{GF}	1493 ~ 1496	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	74(11)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Viral infections affecting the upper or lower respiratory tract induce the production of mucus in the epithelial surfaces of the respiratory cells. The mucus is largely formed by mucins, which are complex O-linked glycosylated proteins. Recent studies revealed that the expression of mucins dramatically increases in the respiratory epithelial cells after some virus infections. However, a little is known about how mucins are produced on the surfaces of respiratory epithelial cells and involved in viral infections. Influenza A virus (IAV) causes the acute upper respiratory infection. In this study, we identified that two miRNAs, which could regulate the expression of GalNAc transferase 3 (GALNT3), rapidly increase at the early phase of IAV infection and may be involved in the process of mucin production. At first, to understand the regulatory mechanism of GALNT3 expression by identified miRNAs, we analyzed the binding of miRNAs to the 3' UTR of GALNT3 mRNA. Furthermore, we investigated the relationship between GALNT3 expression and IAV strain A/Puerto Rico/8/34 (PR8) replication in the upper respiratory epithelial cells. As a result of luciferase reporter assay analysis, two miRNAs actually interacted with 3' UTR of GALNT3 mRNA and regulated GALNT3 expression. Analysis using siRNA against GALNT3 revealed that upregulation of GALNT3 during IAV infection may be associated with IAV gene transcription and replication. We are currently investigating in detail whether the expression of GALNT3 directly associates with IAV replication and how O-glycosylation of mucins and other substrates of GALNT3 act against IAV infection in infected cells.