

## 2011年度採択 研究推進プログラム(基盤研究)研究成果報告書

採択者 (研究代表者)	所属機関・職名：薬学部薬学科・教授 氏名：木村 富紀
研究課題	モルモットインフルエンザモデルによるインターフェロン- $\alpha$ モジュレーターの抗ウイルス活性の評価

### ・研究計画の概要

研究計画について、概要を記入してください。

近年のヒトトランスクリプトーム研究の進展により、ゲノムから多数の蛋白質非コードRNAが転写されていることが明らかになった。しかしながら、長鎖の非コードRNAに限ると、個々の機能の解析はほとんどなされていない。これに対し、我々は感染に対する生体防御初期応答の要である自然免疫において、主エフェクターとなるインターフェロン- $\alpha$ 蛋白質(IFN- $\alpha$ )をコードする遺伝子(*IFNA1*)から、アンチセンスRNA(AS)が転写される事を見出した。これ迄に、

1. *IFN- $\alpha$*  ASは、同mRNAを安定化し、その発現量を増大する事、並びに
2. この安定化機能に関与する塩基配列を持つ合成アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASORN)は全長のASと同程度に*IFN- $\alpha 1$*  mRNAを安定化する事を見いだしている(国際特許出願済み:PCT/JP2010/068209、出願日2010/10/15)

この発見を、今後抗ウイルス薬を創薬するためのシーズとして発展させるには、生体内での検証実験が必須となる。その目的で、IFN 応答遺伝子を持ち、インフルエンザウイルス感染に際し個体間伝播があることから感染実験結果をヒトに外挿可能なモルモットをモデル動物に選択した。これまでにバイオインフォマティクスの検索で得たモルモットの*IFNA1* 候補遺伝子が、同ウイルスを感染させた動物個体の気道においてmRNAのみならずAS RNAを共発現する事を確認した。本申請では、これらの知見を利用して、先に述べたASORNの抗ウイルス効果を検証できるモルモットインフルエンザモデル系の構築を目指した。

### ・研究成果の概要

研究成果について、概要を記入してください。

本基盤研究の結果、

- 1) バイオインフォマティクス解析から得られたモルモット*IFNA1* 候補遺伝子リストを用いて、インフルエンザウイルス感染モルモット気道組織における発現誘導の確認実験とモルモット胎児繊維芽細胞を用いた抗ウイルス活性を検討した結果、モルモット*IFNA1* 遺伝子を特定し、これをDDBJ/EMBL/GenBankに登録した(Gene accession number: AB671739)。
- 2) 1)で特定したモルモット*IFNA1* 遺伝子から*IFN- $\alpha 1$*  ASが、インフルエンザウイルス感染に伴いモルモット気道組織に発現誘導されることを確認した。さらに、モルモット*IFN- 1* mRNAの二次構造上一本鎖を形成する塩基配列から作製したセンスオリゴヌクレオチドによるAS発現のノックダウン実験から、モルモット*IFN- $\alpha 1$*  mRNA上にASが認識するドメインを決定した。
- 3) ASORNのモルモット気道組織への投与にもちいるDDSとして、マウス骨髄から分化誘導した未成熟樹状細胞培養上清からExosomeを単離・精製するための実験系を確立した。このExosomeをモルモット気道に投与したところ、急性GVHDの発症は認められなかった。

今後、2)で決定したAS認識ドメインからこれに対応する*IFN- $\alpha 1$*  AS上のmRNA安定化ドメインを確定し、その塩基配列を有するASORNの抗ウイルス効果をExosomeを利用したin vivo実験により検証する予定である。