

ウイルス分離に適したブタ細胞の樹立に成功

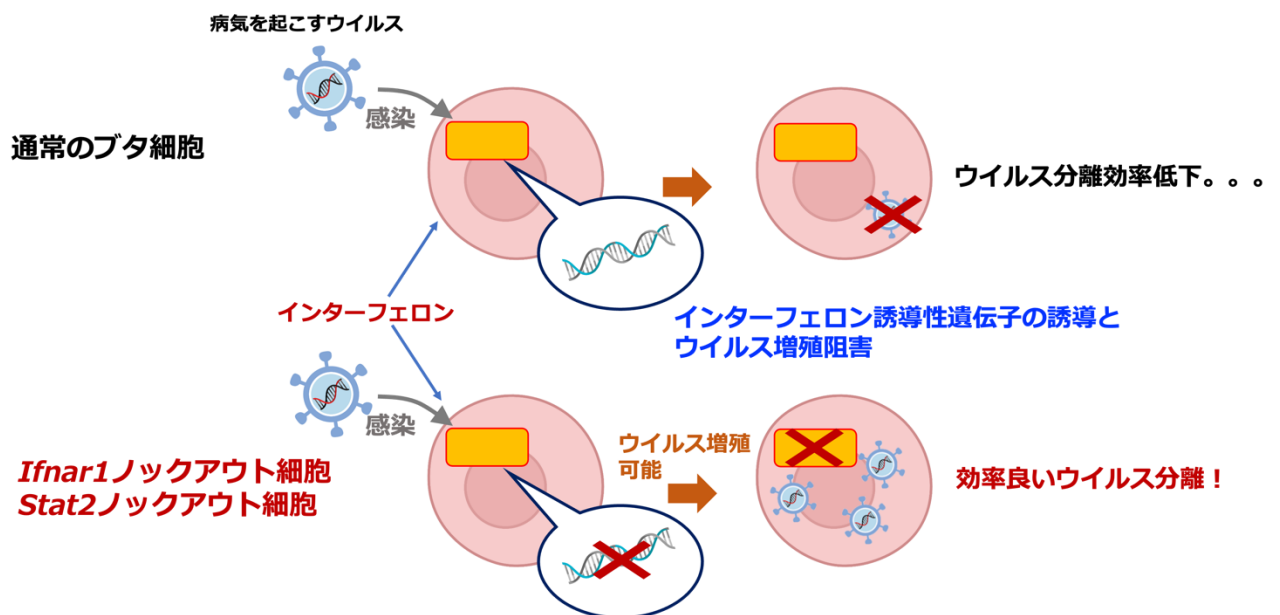
【発表のポイント】

- 豚には口蹄疫、豚熱、アフリカ豚熱など、畜産に重大な被害をもたらすウイルス感染症がある
- これらウイルス感染症の制御のためには、病気を起こしている動物からのウイルス分離が重要である
- 分離されたウイルスはワクチンの材料としても利用できる可能性がある
- ウイルスの増殖を阻害するインターフェロンはウイルス分離効率を低下させる
- 今回、インターフェロン応答に関わる遺伝子をノックアウトしたブタ由来細胞を作製した
- ノックアウト細胞ではインターフェロンによってウイルス増殖が阻害されないことを示した
- 今後、同細胞をウイルス感染症制御に応用にすることが期待される

【概要】

宮崎大学(鮫島浩学長)は、ブタ由来細胞を遺伝子編集することで、ウイルス分離効率の低下につながる遺伝子をノックアウトした細胞を樹立することに世界で初めて成功しました。本研究により、豚ウイルス感染症からの効率良い分離につながり、ウイルス感染症の制御や家畜の健康増進につながるものが強く期待されます。大学院医学獣医学総合研究科3年生・Maya Shofaさん、農学部獣医学科・齊藤暁准教授の研究チームによる研究成果です。

本研究成果は、2023年11月8日にPublic Library of Science社が発行する国際学術誌『*PLOS ONE*』で公開されます。



家畜ウイルス感染症の制御、家畜の健康増進への貢献が期待される

【背景と成果】

豚には口蹄疫、豚熱、アフリカ豚熱など、畜産に重大な被害をもたらすウイルス感染症があり、本県において2010年に発生した口蹄疫では、極めて大きな社会的、経済的インパクトがありました。豚には他にも多くのウイルス感染症があり、また、インフルエンザ、日本脳炎、ニパウイルス感染症など、多くの人獣共通感染症の宿主として重要であると考えられています。これらウイルス感染症の制御のためには、病気を起こしている動物からのウイルスを分離し、そのウイルスの特性を解明することが重要です。また、分離されたウイルスはワクチンの材料としても利用できる可能性があります。

哺乳類においては、ウイルス感染から自らを守る機構として、ウイルス感染を阻害するインターフェロンを備えています。一方で、ウイルス分離の場面においては、インターフェロンはウイルス分離効率を低下させることがわかっています。このことから、インターフェロンを産生できないアフリカミドリザル由来の細胞が豚のウイルス感染症においても用いられてきましたが、本来、多くのウイルスは本来の動物種で最もよく増えることが多いため、インターフェロンによるウイルス増殖阻害を受けないブタ由来細胞の樹立が求められてきました。

そこで本研究では、インターフェロンの受容体 IFNAR1 の *Ifnar1* 遺伝子と、インターフェロン応答に重要な因子 STAT2 の *Stat2* 遺伝子を欠損するブタ由来細胞の樹立に取り組みました。まず、CRISPR/Cas9 技術を用いることで *Ifnar1* 遺伝子もしくは *Stat2* 遺伝子を欠損したノックアウト細胞を樹立しました。次に、これらの細胞ではインターフェロン処理を行なったところ、通常のブタ細胞ではウイルス増殖が著しく阻害される一方、*Ifnar1* 遺伝子ノックアウト細胞および *Stat2* 遺伝子ノックアウト細胞ではウイルス増殖が全く阻害されないことを示しました（図1）。

また、実際のウイルス分離の場面を想定し、インターフェロン産生を誘導する物質を細胞に処理し、その効果を調べました。その結果、通常の細胞ではウイルス増殖が阻害された一方、*Ifnar1* 遺伝子ノックアウト細胞および *Stat2* 遺伝子ノックアウト細胞ではウイルス増殖が全く阻害されないことを示しました（図2）。本研究により、豚からのウイルス分離効率の向上が期待され、ウイルス感染症の制御や家畜の健康増進への貢献が強く期待されます。

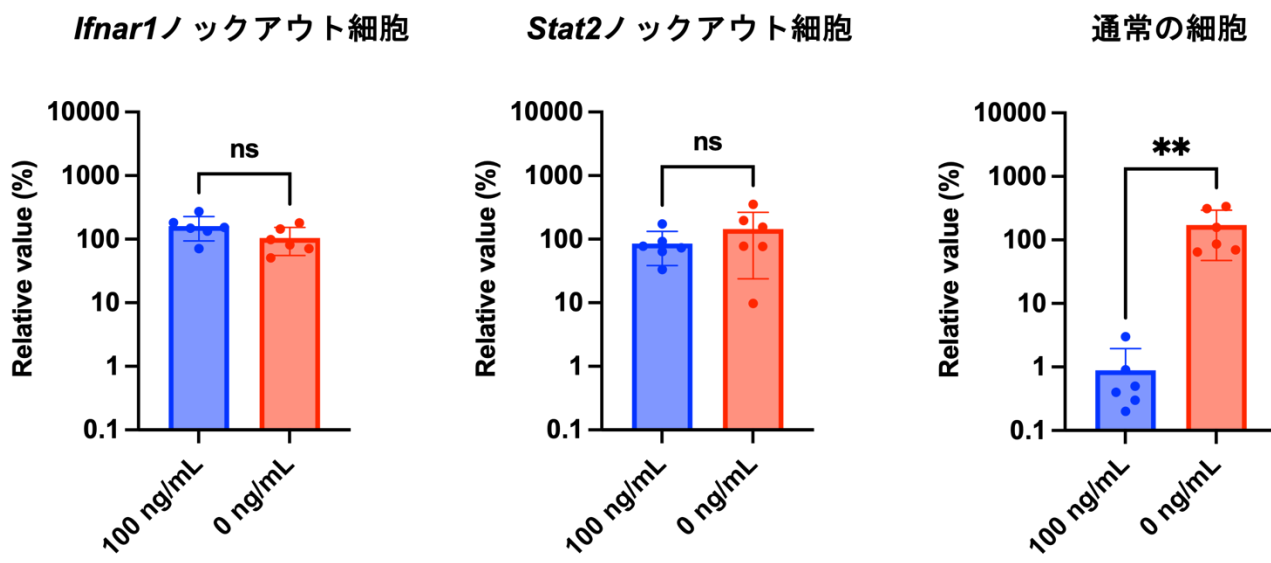


図1. *Ifnar1* 遺伝子ノックアウト細胞および *Stat2* 遺伝子ノックアウト細胞ではインターフェロンによるウイルス増殖が認められない

インターフェロン処理を行うと通常の細胞ではウイルス増殖が著しく阻害されますが、*Ifnar1* 遺伝子ノックアウト細胞および *Stat2* 遺伝子ノックアウト細胞ではウイルスは良好に増殖します。

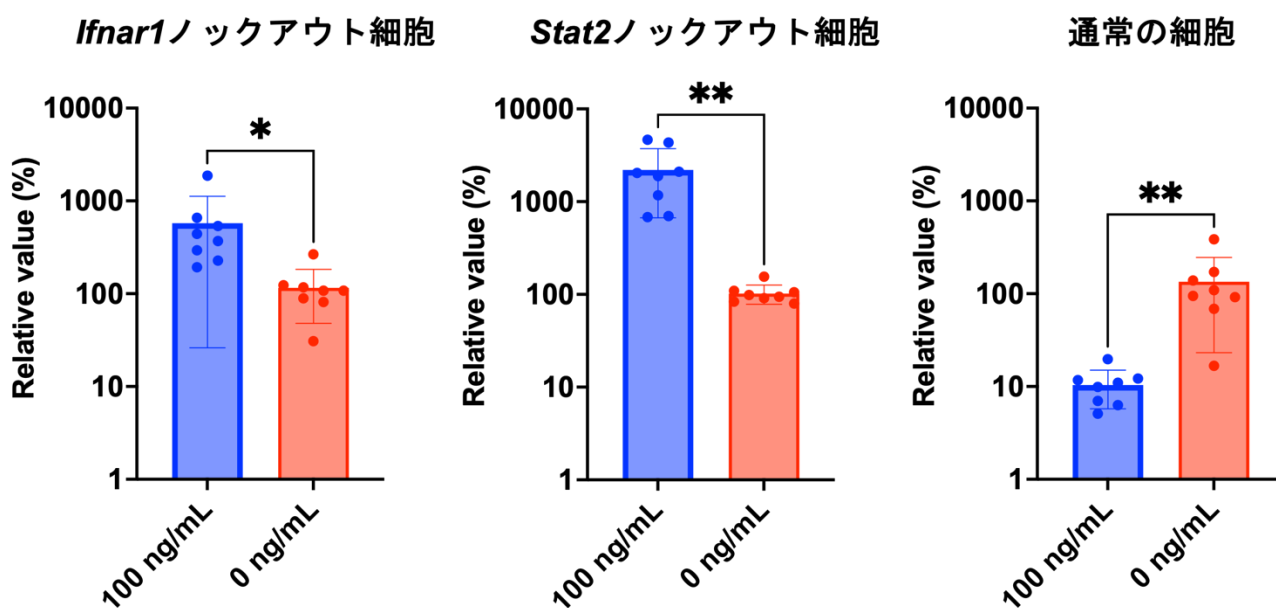


図2. *Ifnar1* 遺伝子ノックアウト細胞および *Stat2* 遺伝子ノックアウト細胞ではインターフェロン誘導性物質によるウイルス増殖が認められない

インターフェロン産生を誘導する物質を処理すると、通常の細胞ではウイルス増殖が阻害されますが、*Ifnar1* 遺伝子ノックアウト細胞および *Stat2* 遺伝子ノックアウト細胞ではウイルスは良好に増殖します。

【今後の展望】

今回、豚からのウイルス分離効率に適したブタ細胞の樹立に成功しました。同細胞の樹立により、これまで困難であったウイルス分離の効率の改善が期待され、現在、幅広い活用法の検討を進めています。また、今回樹立した細胞に関連した特許を出願中です（特願2023-51037）。今後、ブタ以外の動物種についても同様の検討を進めることで、国内有数の畜産県である宮崎県はもちろんのこと、国内外における家畜の健康増進や農業分野における画期的なイノベーションにつなげていきたいと考えています。

【論文情報】

雑誌名：「*PLOS ONE*」オンライン版

論文タイトル：Generation of porcine PK-15 cells lacking the *Ifnar1* or *Stat2* gene to optimize the efficiency of viral isolation

著者：Maya Shofa, Akatsuki Saito*

(*Corresponding author)

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289863>

URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0289863>

<研究に関する問合せ先>

宮崎大学 農学部獣医学科
准教授 齊藤 暁

TEL : 0985-58-7275

e-mail : sakatsuki@cc.miyazaki-u.ac.jp

<取材に関する問合せ先>

宮崎大学 企画総務部総務広報課
崎向・後田

TEL : 0985-58-7114

e-mail : kouhou@of.miyazaki-u.ac.jp