

I-4

抗ヒトサイトメガロウイルス活性のある tricin が インターフェロン誘導性遺伝子発現に影響を与える

○茂木 香保里, 定成 秀貴, 武本 眞清, 大黒 徹, 村山 次哉

北陸大学薬学部

【目的】

当研究室では、これまでにイネ科植物クマザサの含有成分の一つである tricin (4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone) が強い抗ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 活性を示すことを明らかにし、その作用機序について検討してきた。HCMV 感染細胞では I 型インターフェロン (IFN) が誘導され、オートクラインにより JAK/STAT 経路が活性化され、抗ウイルス活性に関わる遺伝子が発現する。今回は、それらの遺伝子発現に対する tricin の影響について検討した。

【方法】

細胞はヒト胎児肺線維芽 (HEL) 細胞を、ウイルスは HCMV Towne 株を用い、MOI は 1 PFU/cell とした。Tricin は 10 μ M で使用した。細胞内の遺伝子発現は real-time RT-PCR 法及び Western blot 法で調べた。また、タンパク質の活性化に重要なリン酸化についても Western blot 法で調べた。

【結果】

HCMV 感染 HEL 細胞では、IFN- α の mRNA は感染後 3 時間で急激に増加し、24 時間後までに徐々に減少したが、72 時間後でも検出された。感染吸着後に tricin を添加したが、IFN- α 発現の経時的変化は未処理感染細胞と比べ大きな違いは見られなかった。次に、IFN 誘導性遺伝子 MxA の発現に対する tricin の影響を調べた。HEL 細胞を 250 units/ml の IFN- α で処理すると、MxA の mRNA 量は処理後 8 時間で急激に増加し、その後減少し 72 時間まで検出された。IFN- α と同時に tricin を添加すると、処理後 8 時間での急激な増加が IFN- α 処理細胞に比べ抑制された。また、感染細胞では、MxA の mRNA 量は感染後 24 時間で急激に増加し、その後減少し 72 時間では著しく低下した。感染吸着後に tricin を添加すると、24~48 時間の MxA の発現が感染細胞と比べ抑制されたが、72 時間では感染細胞よりも増加していた。さらに、JAK/STAT 経路の活性化に重要な STAT1、STAT2、STAT3 のリン酸化を調べた。STAT1 のリン酸化は IFN- α 処理後 1 時間で急激に増加し、その後減少し 72 時間まで検出されたが、同時に tricin を添加すると、リン酸化量は減少した。STAT2 のリン酸化量は、IFN- α 処理後も少なく、tricin による変化は見られなかった。STAT3 のリン酸化量は STAT1 とほぼ同様の結果を示していたが、IFN- α 処理後 72 時間では tricin の添加によりリン酸化量が増加した。また、未感染細胞を tricin のみで処理した場合でも、5~72 時間で STAT1 と STAT3 のリン酸化が検出され、MxA の mRNA が 24~72 時間で検出された。

【結論】

HCMV 感染により HEL 細胞に発現する MxA 遺伝子発現に対し、tricin が影響を与えていることが示された。特に、感染後期での MxA 遺伝子発現が tricin により維持されていることが抗 HCMV 活性と関係している可能性が考えられる。今後、MxA と HCMV 増殖の関係を明らかにしていく必要がある。