

ウイルス研究を対象とするオープンアクセスの科学ジャーナル『Viruses』にて、当社研究部と北海道大学との共同研究の成果が掲載されました。

【論文タイトル】

Dual Effect of Organogermanium Compound THGP on RIG-I-Mediated Viral Sensing and Viral Replication during Influenza A Virus Infection

※“THGP”とは、水に溶けた状態のアサイゲルマニウムの略称です。

【著者】

Sunanda Baidya<sup>1,2</sup>, Yoko Nishimoto<sup>1,2</sup>, Seiichi Sato<sup>1,2</sup>, Yasuhiro Shimada<sup>3</sup>, Nozomi Sakurai<sup>1</sup>, Hirotaka Nonaka<sup>1,2</sup>, Koki Noguchi<sup>1,2</sup>, Mizuki Kido<sup>1,2</sup>, Satoshi Tadano<sup>1,2</sup>, Kozo Ishikawa<sup>1</sup>, Kai Li<sup>1,2</sup>, Aoi Okubo<sup>1,2</sup>, Taisho Yamada<sup>1,2</sup>, Yasuko Orba<sup>4</sup>, Michihito Sasaki<sup>4</sup>, Hirofumi Sawa<sup>4</sup>, Hiroko Miyamoto<sup>5</sup>, Ayato Takada<sup>5</sup>, Takashi Nakamura<sup>3</sup> and Akinori Takaoka<sup>1,2</sup>

1: 北海道大学遺伝子病制御研究所 分子生体防御分野, 2: 北海道大学 大学院総合科学院, 3: 浅井ゲルマニウム研究所 研究部, 4: 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 分子病態・診断部門, 5: 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 国際疫学部門

【掲載誌】

Scientific Reports 9, Article number:13637 (2019)

【URL】

<https://www.nature.com/articles/s41598-019-49883-7.pdf>

## はじめに

インフルエンザは例年冬季に流行する感染症です。当社では過去に、マウスによる試験でインフルエンザウイルス感染へのアサイゲルマニウムの有効性を報告しています。しかし、有効なウイルス種やメカニズムは不明な部分が多く、インフルエンザ感染による自然免疫応答への影響についても不明なままでしたが、今回の研究により、その一部が解明されたのです。

## 研究の概要

【実験1】アサイゲルマニウムが有効なウイルスの種類と、そのウイルスが持つ特徴的な分子構造の特定

➡ “3pRNA”をゲノムとして持つウイルスに有効である可能性が高いことがわかりました。

【実験2】ウイルスの増殖に対するアサイゲルマニウムの働きの解析

➡ 3pRNAとアサイゲルマニウムが相互作用することによって、ウイルスゲノムの認識機構を阻害し、ウイルスの増殖を抑えることがわかりました。

【実験3】免疫機能が働かないマウスがインフルエンザウイルスに感染した際の、アサイゲルマニウムの作用の検討

➡ アサイゲルマニウムを与えていないマウスは7日で全個体が死亡しましたが、アサイゲルマニウムを与えたマウスは50%以上が7日以上生存、約20%が14日以上生存しました。

➡ アサイゲルマニウムを与えたインフルエンザウイルス感染マウスの肺組織は健康なマウスに近い状態を維持していたことも確認されました。

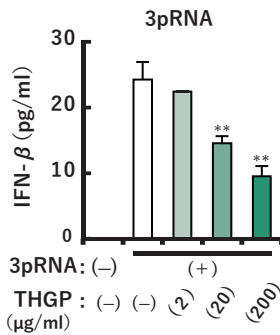
# 研究の内容

## 実験1: ウイルスの種類に対するアサイゲルマニウムの影響を検討

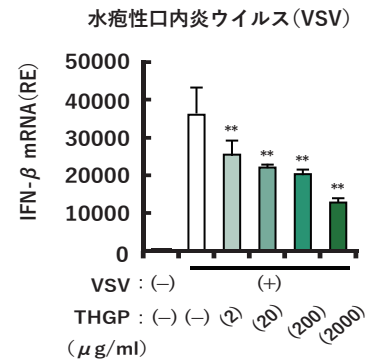
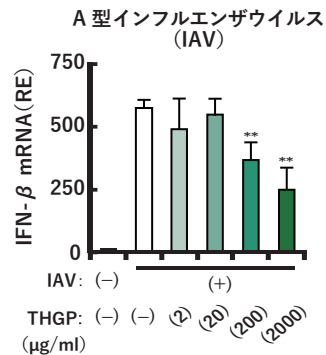
### 実験 1-①: アサイゲルマニウムの 3pRNA や RNA ウイルス感染による I 型インターフェロン誘導抑制を検討

インフルエンザウイルスなどのウイルスに感染すると、ウイルスのゲノムが細胞内に侵入します。細胞はウイルスゲノムを受容タンパクによって感知し、I 型インターフェロン (IFN- $\beta$ ) や炎症性サイトカインを誘導します。まず、細胞実験によって、ウイルス感染で誘導される IFN- $\beta$  の分泌へのアサイゲルマニウムの影響を確認しました。

#### ① ELISA法による IFN- $\beta$ の測定



#### ② 1本鎖RNAウイルス感染時の IFN- $\beta$ の測定



その結果、インフルエンザウイルス (IAV) や水疱性口内炎ウイルス (VSV) などの、ゲノムが 3pRNA タイプのウイルス感染による IFN- $\beta$  分泌のみ、アサイゲルマニウムによって有意に抑制されました。3pRNA 自体で細胞を処理した場合にも、同じ抑制効果が得られました。

### 実験 1-②: 3pRNA とアサイゲルマニウムの相互作用に関する検討

専用のカラムを用いて、アサイゲルマニウムと相互作用する成分を調べました。

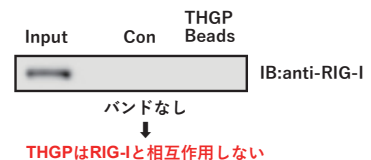
特定の RNA ウイルスを認識する受容タンパク質「RIG-I」とアサイゲルマニウムでは、相互作用は認められませんでした (図①)。

次に、アサイゲルマニウムと 3pRNA、polyI:C、DNA との相互作用を調べたところ、アサイゲルマニウムは 3pRNA と強く相互作用することが示されました (図②)。

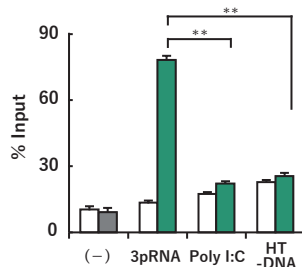
さらにアサイゲルマニウムが相互作用する構造を特定するため、脱リン酸化した 3pRNA で同様の実験を行いました。その結果、相互作用が減弱したことから、アサイゲルマニウムは、3pRNA の 5' 末端と相互作用することが示唆されました (図③)。



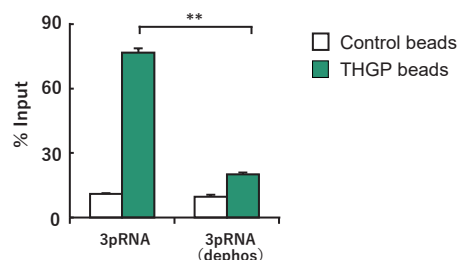
#### ① アサイゲルマニウムと RIG-I の相互作用検討



#### ② 各物質と THGP との相互作用検討



#### ③ 3pRNA 及び脱リン酸化 3pRNA と THGP との相互作用検討



## 実験2: ウイルス増殖に対するアサイゲルマニウムの作用を検討

### 実験 2-①: ウイルス力価に対するアサイゲルマニウムの影響検討

RAW264.7 細胞(マウスマクロファージ様細胞)を用いて、インフルエンザウイルス (IAV) の複製に対するアサイゲルマニウムの影響を検討しました。

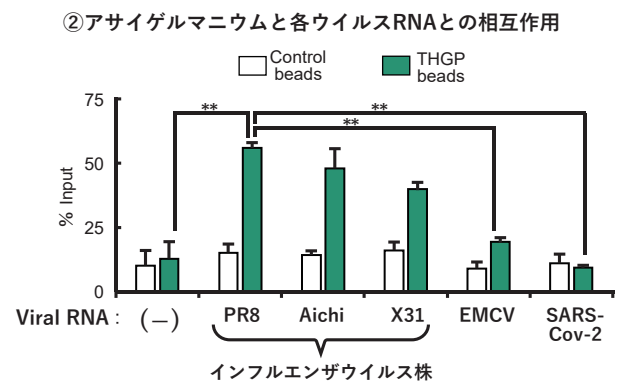
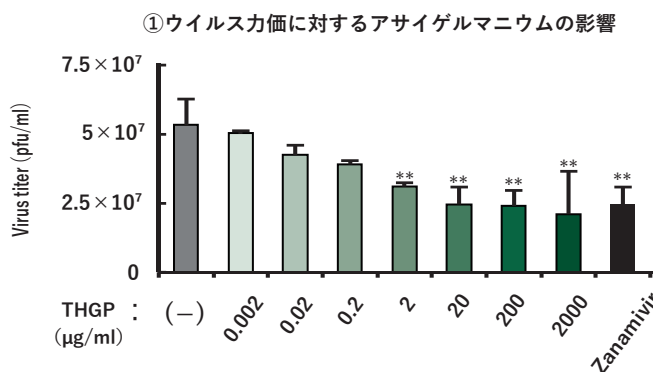
その結果、アサイゲルマニウム濃度依存的に、IAV の力価が減少し、ウイルスの複製が抑制されていきました。特に THGP 20  $\mu$ M 以上の濃度で、ザナミビル(インフルエンザウイルス感染症の治療薬)と同じレベルの抑制効果を示しました。

### 実験 2-②: アサイゲルマニウムとウイルス RNA の相互作用検討

続いて、アサイゲルマニウムがどのウイルスの RNA と相互作用するかを検討しました。

その結果、脳心筋炎ウイルス (EMCV) や、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の RNA との相互作用は確認されませんでした。

しかし、インフルエンザウイルス (PR8、Aichi、X31) の RNA はアサイゲルマニウムと強く相互作用することが明らかになりました。

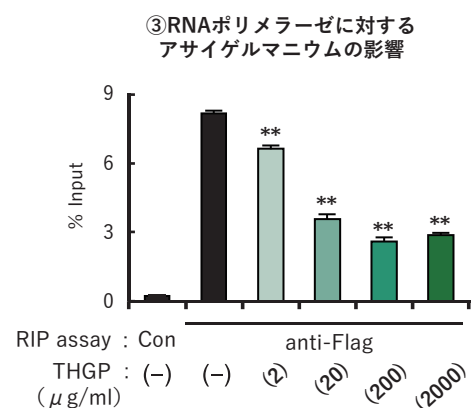


### 実験 2-③: RNA ポリメラーゼに対するアサイゲルマニウムの影響検討

アサイゲルマニウムがウイルスの RNA と相互作用することで、ウイルスの複製に対しても影響を与えると考えました。

複製に働く RNA ポリメラーゼに対するアサイゲルマニウムの影響を評価したところ、濃度依存的にその活性を抑制していました。

このことからアサイゲルマニウムは、インフルエンザウイルスの RNA と相互作用することで、RNA ポリメラーゼによる複製を阻害し、ウイルスの増殖を抑制していることが示唆されました。



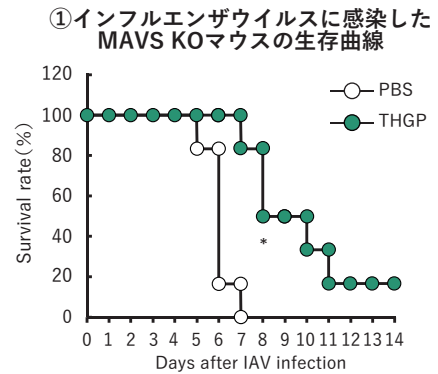
## 実験3: インフルエンザウイルス感染マウスに対するアサイゲルマニウムの作用を検討

本実験では、IFN- $\beta$  が誘導されないため、ウイルス感染に対する免疫防御が働かない「MAVSノックアウト (KO) マウス」を用いて実験を行いました。

### 実験 3-①: インフルエンザウイルス (IAV) に感染した MAVS KO マウスの生存率への影響検討

IAV を感染させた MAVS KO マウスに、生理食塩水 (PBS) とアサイゲルマニウムそれぞれを投与し、各群での生存率を比較しました。

その結果、生理食塩水投与群は 7 日で全個体が死亡しました。  
対して、アサイゲルマニウム投与群では、生存する個体が確認され、有意に生存率を向上させる結果が確認されました。



### 実験 3-②: IAV 感染マウスの肺組織への影響検討

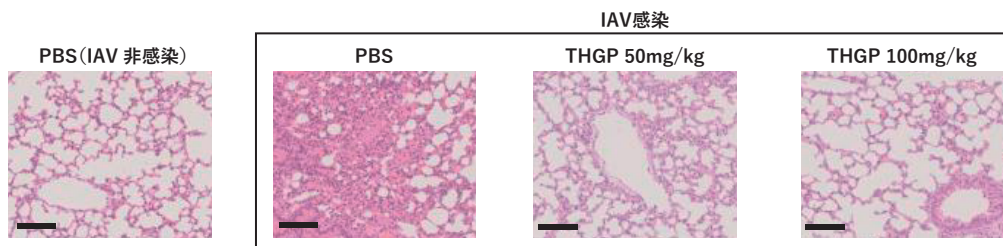
IAV 感染マウスの肺組織を染色することで観察しました。

その結果、IAV に感染し、PBS を投与したマウスの肺組織では、炎症によるダメージが確認されました。

その一方で、IAV に感染し、アサイゲルマニウムを投与されたマウスの肺組織は、非感染の肺組織に近い状態になっていることが確認されました。

この結果は、自然免疫系が働かないマウスにおいても、アサイゲルマニウムによってウイルスの複製が抑制され、炎症が抑制されたためと考えられます。

② インフルエンザウイルス感染時の MAVS KO マウスの肺組織染色図



## まとめ

本研究によって、下記のことが明らかになりました。

- ① ウイルス感染の認識経路の一つである RIG-I による 3pRNA 認識を抑制した。
- ② インフルエンザウイルス感染において、RNA と相互作用することによってウイルス由来ポリメラーゼの認識を抑制し、ウイルス複製を抑制した。
- ③ 自然免疫が働かないマウスにおいても、インフルエンザウイルス感染時の延命を促し、更に肺の炎症による組織損傷も抑制した。

これまでもアサイゲルマニウムによるインフルエンザウイルスの抑制作用を確認してきましたが、本研究により、アサイゲルマニウムは特定のウイルスが保有するゲノム RNA (3pRNA) と相互作用することで、炎症性物質の産生やウイルス複製を抑制することが明らかとなりました。

アサイゲルマニウムのウイルス感染の防御策としてのさらなる貢献が期待され、また RNA が関係する炎症性疾患に対しても役立つ可能性が示唆されました。

## お問い合わせ



株式会社

浅井ゲルマニウム研究所

ASAI Germanium Research Institute Co., Ltd.

〒215-0004 神奈川県川崎市麻生区万福寺  
1-1-1 新百合ヶ丘シティビルディング 3F  
TEL: 044-954-2101 FAX: 044-954-2066

無断複写・無断転載禁止