

4. インフルエンザウイルス感染細胞における宿主遺伝子の発現

清水 一史, 黒田 和道

日本大学医学部免疫学・微生物学教室

インフルエンザウイルス感染細胞では IFN (interferon) - α / β , MxA, OAS (2', 5'-oligoadenylate synthetase), Fas など感染防御に働く宿主遺伝子の発現が誘導される。一方, ウイルスタンパク質合成の立ち上がりに伴って, 宿主タンパク質合成の著しい抑制, すなわち, 宿主遺伝子発現の shut-off が起こる。最近, 我々はインフルエンザウイルス NS1 タンパク質が宿主 mRNA 前駆体ポリ A 部位切断反応の阻害活性を持つことを明らかにした。そして, Krug 等のグループにより NS1 と結合する宿主因子が同定され, 宿主遺伝子の発現を mRNA の転写後修飾の段階で抑制する新しい機構が明らかになった。また, NS1 が dsRNA に結合して細胞内シグナル伝達レベルで IFN 誘導性遺伝子の発現を抑制することが明らかになってきた。感染細胞は遺伝子の発現をめぐるウイルスと宿主の戦場といえる。我々は攻防の全体像を知るためインフルエンザウイルス抵抗性細胞と感受性細胞における遺伝子発現の網羅的解析を行っている。ウイルス感染誘導性遺伝子は大半が IFN 誘導性遺伝子と重なり, 抵抗性細胞では抗ウイルス活性が知られている遺伝子の高発現誘導がみられた。

はじめに

インフルエンザウイルスに感染した MDCK 細胞は一晚の内に死んでしまい, 細胞は完全にシャーレからはがれてしまう。このようなことが生体内で起こることを想像すると恐怖心を抱かざるを得ない。生体はウイルス感染に対抗するために幾重にも防御機構を備えている。これらは獲得免疫と自然免疫に大別され, 自然免疫には IFN 系^{1), 2), 3)} や最近明らかにされた TLR (Toll-like receptor) 系^{4), 5)} も含まれる。獲得免疫は特異性が高く防御作用は強いが, 誘導に時間がかかる。自然免疫は特異性が低く防御作用は完全とはいえないが, 短時間で発動する。自然免疫で防御できないウイルスが生じ, それに対抗するために自然免疫を基盤にして獲得免疫が進化したと考えられる。免疫系は多細胞生物の体内で細胞の外のウイルス粒子に作用したり, 感染細胞を細胞の外から傷害したり, 近傍の細胞に細胞の外か

ら感染情報を伝えるシステムである。このシステムは一度に感染したシャーレの細胞を守ることはできない。

IFN は熱不活化インフルエンザウイルスの刺激で細胞で産生されて細胞外に放出され, ウイルス種非特異的にウイルスの増殖を抑制する干涉媒介物質として発見された^{6), 7)}。発見当時は増殖干渉に宿主因子が関わることは想定されなかったが, 現在では数百の ISGs (IFN-stimulated genes) が誘導され^{8), 9)}, MxA¹⁰⁾, OAS¹¹⁾, PKR (protein kinase R)¹²⁾, ISG20¹³⁾, PML¹⁴⁾ などいくつかは細胞内でインフルエンザウイルス増殖抑制作用をもつことが明らかにされている。このように抗ウイルス遺伝子は INF により誘導されるものとして認識されてきた。ところが, インフルエンザウイルス感染における IFN と ISGs の誘導を経時的に解析したところ, 多くの ISGs が IFN より先に発現する結果を得た (表1)。最近, インフルエンザウイルスが IFN 非依存的に IRF3 (IFN response factor 3) を活性化し, 代表的な ISG である ISG15 と p56 の転写を誘導することが示された¹⁵⁾。ウイルス感染細胞では IFN を介さず直接 ISG の発現を誘導するシグナル経路が感染初期には働くと考えられる (図5)。細胞生物進化の過程には長い単細胞の時代があり, その時期もウイルスは存在し, 細胞生物と共進化したものと考えられている。細胞内で完結する抗ウイルス機構が単細胞時代に進化し, 抗ウイルス遺伝子が生み

連絡先

〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1

TEL : 03-3972-8111 内線2260

FAX : 03-3972-9560

E-mail : kazu@med.nihon-u.ac.jp

表 1 IFN 誘導性遺伝子 (ISG) のインフルエンザウイルス感染による発現

Gene	Fold increase, log ₂				
	2 h pi	4 h pi	6 h pi	8 h pi	12 h pi
IFIT1	A*	7	7	7	9
G1P3	A	5	6	7	8
G1P2	A	5	6	8	7
OAS1	A	3	4	5	5
MX1 (MxA)	0	2	4	6	5
IFIH1	A	2	4	5	5
IFIT3	A	2	3	4	4
DDX58 (RIG-I)	A	A	5	6	5
GBP1	0	A	4	4	9
LAMP3	0	1	4	5	6
IRF7	A	1	4	4	5
ISGF3G	0	1	3	3	2
WARS	0	0	1	2	4
PSMB8	0	0	1	2	3
BTC	A	A	A	A	7
IFNB1 (IFN-β)	A	A	A	A	4
SOCS1	0	A	0	0	4
SERPING1	0	A	0	1	3

*有意の発現なし

出され、これを基盤にして多細胞生物で TLR や IFN の系が発達したと推察される。面白いことに感染細胞での IFN の発現はウイルス増殖量に相関していた。これは、IFN の産生量は、感染が及ぶ範囲の細胞にウイルス抵抗性を与えるために必要な量に調節される、と解釈される。ウイルスと宿主の戦いの第一の主戦場はなんといっても感染細胞内であり、そこで立ち上がる抗ウイルス機構によりウイルスを制御できれば自然免疫も獲得免疫も出動する必要がないのである。このシステムはうまく働けばシャレの細胞を守ることができる。ここではインフルエンザ感染に対する宿主細胞の遺伝子発現応答とウイルス側の宿主遺伝子発現抑制機構について紹介する。

インフルエンザウイルス NS1 による 宿主遺伝子発現抑制機構

インフルエンザウイルス感染細胞ではウイルスタンパク質合成の立ち上がりに伴って、宿主タンパク質合成は著しく抑制される。すなわち、宿主遺伝子発現の shut-off が起こる。我々は、宿主遺伝子の代表として主要熱ショックタ

ンパク質 HSP70 を選び、熱ショックによる発現誘導に対するウイルス感染の影響を解析した。HSP70 タンパク質の合成誘導は感染後の時間経過に連れて抑制され、感染4時間後には80%抑制された(図1)。その時、細胞質の HSP70 mRNA の蓄積もタンパク質合成と同様に抑制された。核内では成熟 HSP70 mRNA (2.7 kb) の蓄積は同様に抑制されていたが、6-30 kb に渡る大きな転写産物の蓄積量が著しく増加していた。HSP70 遺伝子のポリ A 部位を跨ぐ断片より作成したプローブを用いた RNase プロテクション試験により、この大きな転写産物はポリ A 部位上流配列ばかりでなく下流配列も持つこと、すなわち、ポリ A 部位未切断の HSP70 mRNA 前駆体であることが示された¹⁶⁾。

真核細胞における転写はポリ A 部位の数百から数千塩基下流で終結する。そのため mRNA の成熟過程にはポリ A 部位での切断反応とそれに引き続く数百塩基のアデニンの付加反応が含まれる。インフルエンザウイルスはこのポリ A 部位切断反応を阻害して宿主遺伝子の発現を抑制する機構を持つことが明確に示された(図2)。

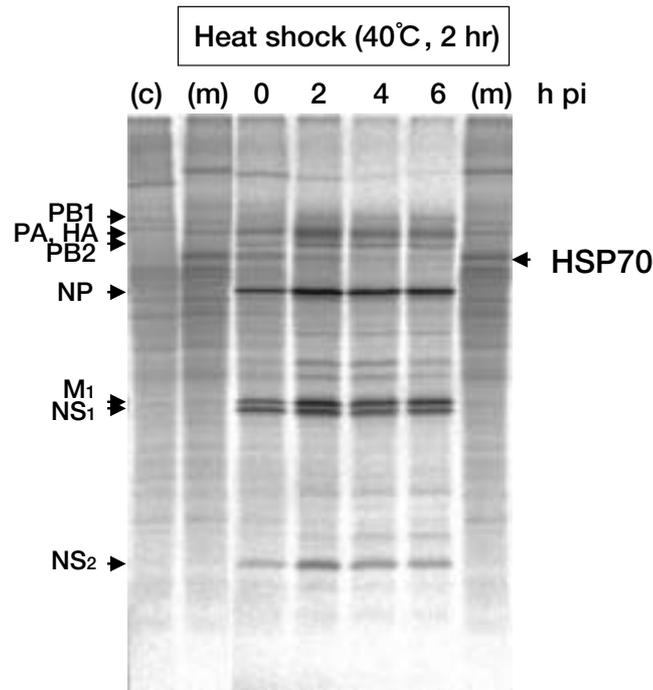


図1 インフルエンザウイルス感染細胞における HSP70 タンパク質合成誘導の抑制
 左側はウイルスタンパク質の、右側は HSP70 タンパク質の位置を示す。(c)：ウイルス非感染，熱ショック処理なしのコントロール細胞；(m)：ウイルス非感染，熱ショック処理細胞；0, 2, 4, 6：ウイルス感染後 0, 2, 4, 6 時間目に熱ショック処理した MDCK 細胞。

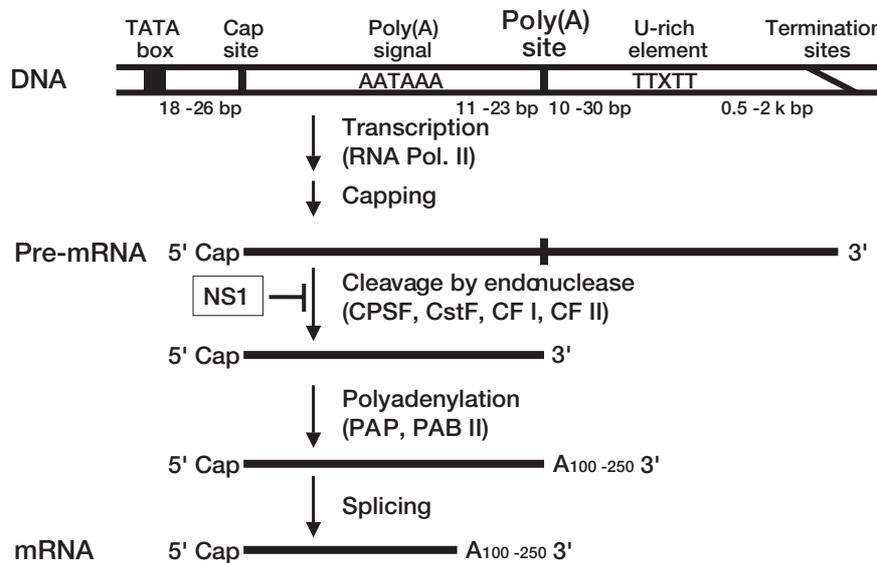


図2 真核細胞における mRNA の成熟過程
 インフルエンザウイルスの NS1 タンパク質は mRNA 3' 端切断ポリ A 付加複合体の一因子 CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor) の 30-kDa サブユニットに結合し，mRNA 前駆体のポリ A 部位切断反応を阻害する．その結果 mRNA の成熟に不可欠なポリ A 付加ができなくなる．

この切断反応の阻害に関与するウイルス遺伝子およびそのタンパク質の阻害ドメインを同定するために、インフルエンザウイルスの温度感受性 (ts) 突然変異株を用いた解析を行った。その結果、ウイルスの NS1 タンパク質が宿主 mRNA 前駆体のポリA部位切断反応を阻害すること、阻害ドメインはN末端側 RNA 結合ドメインと C 末端側 Effector ドメインの間に存在することが示された (図3)。Krug 等のグループは NS1 と結合する宿主因子が CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor) の 30-kDa サブユニットであることを明らかにした¹⁷⁾。CPSF は mRNA 前駆体ポリ A 付加部位の十数塩基上流にある AAUAAA ポリ A シグナルに結合する因子で、ポリ A 部位切断とポリ A の付加反応に必須である。彼らはさらにヒトの肺由来細胞 A549 で NS1 の CPSF 結合活性により ISG の発現が抑制されることを示した¹⁸⁾。この遺伝子発現阻害様式は新たに転写されるもののみ働き得るので、新たに発現が誘導される遺伝子や mRNA の寿命が短い遺伝子に効果を発揮する (図5)。この様な阻害機構が進化したのは宿主 mRNA 5' 端断片をプライマーとして利用してゲノムの転写をするインフルエンザウイルスの特異な増殖様式と相関していると考えられる。

インフルエンザウイルス感染は IRF3 の活性化をもたらすが、NS1 は IFN- α/β の転写因子の一つである IRF3 の活性化を阻害する活性も持つ¹⁹⁾。NS1 は dsRNA 結合能を持ち²⁰⁾、PKR (protein kinase R) の活性化を阻害することが知られている²¹⁾。インフルエンザウイルス感染における IRF3 の活性化シグナルは dsRNA から始まると考えられるので、NS1 の結合によりシグナル発動ができなくなる

と考えられている。

NS1 は感染細胞で大量に合成されるが、ウイルス粒子には取り込まれない。したがって感染直後の時期には細胞内に存在しない。ウイルスゲノムは (-) ssRNA であり、これに NP タンパク質と RNA ポリメラーゼ複合体が結合してヌクレオカプシドを形成している。ヌクレオカプシドはウイルスエンベロープの膜融合により細胞質内に放出され、核内に移行し、結合している RNA ポリメラーゼにより直ちに mRNA の合成を始める。この持ち込んだウイルス RNA ポリメラーゼによる一次転写にはタンパク質合成は必要としない。また、タンパク質合成阻害剤の存在下でも、IRF3 の活性化が起こることが示されているので¹⁵⁾、合成された mRNA の一部が部分的な二重鎖構造を作り、dsRNA として細胞のウイルスセンサーに認識されることが考えられる。この時期には NS1 の IRF3 活性化抑制は働き得ない。

インフルエンザ感染による宿主遺伝子の発現変動

インフルエンザ感染細胞ではウイルスタンパク質の合成は感染後1.5時間目には検出レベルになり4時間目にはすでにピークに達する。一方、感染に応答して発現する宿主遺伝子 (VSG, virus-stimulated gene) も早いものは4時間目に顕著な発現がみられる。ここで VSGs の発現を抑制する NS1 とウイルスの増殖を抑制する MxA などの抗ウイルス VSGs との競合が始まる。このバランスは細胞レベルおよび生体レベルでの感染の帰結に重大な影響を及ぼすと考えられる。

インフルエンザ感染の場である呼吸器系の上皮細胞に由

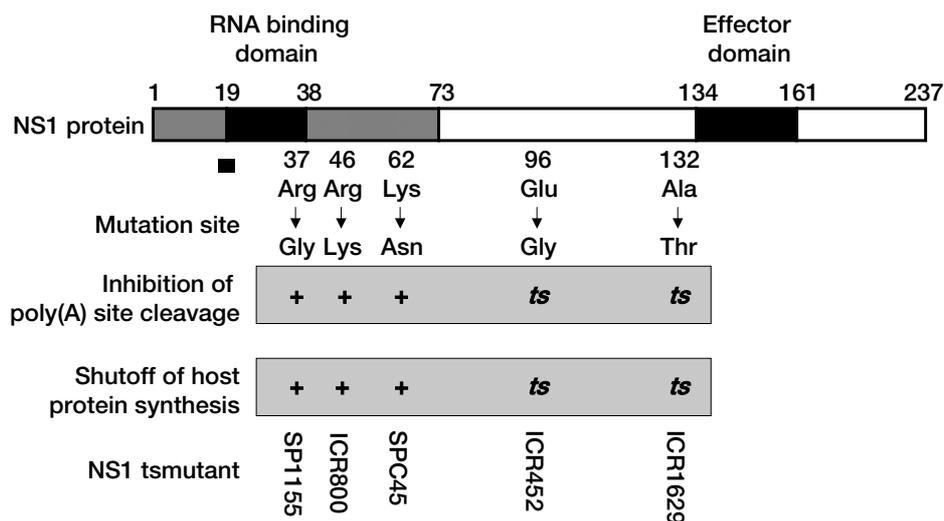


図3 インフルエンザウイルス NS1 の機能ドメインの解析

NS1 温度感受性突然変異株5種類の解析からポリA部位切断阻害ドメインはRNA結合ドメインと既知のエフェクタードメインの間にあることが示された。

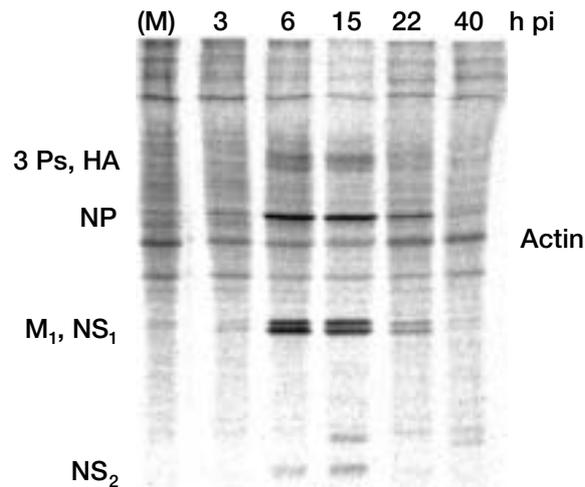


図4 インフルエンザウイルスの細胞レベルにおける一過性感染
ヒト気管支上皮細胞株 NCI-H292 細胞にインフルエンザ A/Udorn/72 ウイルスを感染し、細胞内のタンパク質合成を経時的に解析した。ウイルスのタンパク質合成は感染後 6-15時間では著明に見られたが、22-40時間ではほとんど見られなくなった。

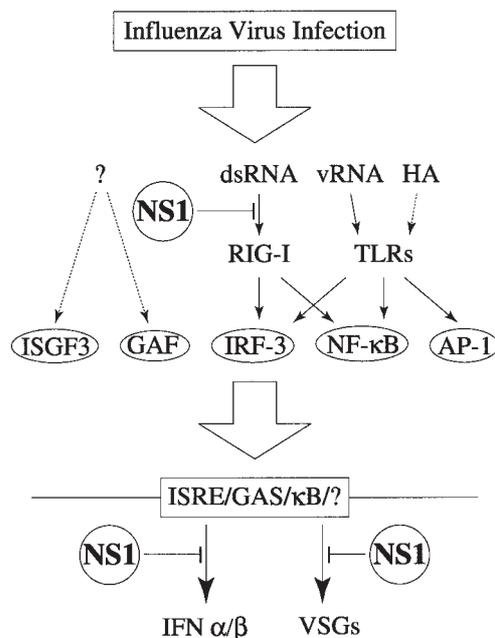


図5 インフルエンザウイルス感染による宿主遺伝子の発現誘導

ウイルスの吸着・侵入により細胞に持ち込まれる HA タンパク質やゲノム RNA は TLR4 や TLR3, TLR8 の経路により転写因子 NF- κ B, AP-1, IRF-3 を活性化する。また、感染成立後に細胞核内で合成される mRNA や vRNA は細胞質に輸送され、そこでおそらく一部の RNA が分子間あるいは分子内で dsRNA 構造を形成し、RIG-I の経路により IRF-3 と NF- κ B を活性化する²⁷⁾。これらの転写因子は ISRE, GAS, κ B などの転写制御領域に結合し、下流の遺伝子 IFNs や VSGs (virus-stimulated genes) の発現を誘導する。VSGs の大部分は ISGF3 と GAF により誘導される ISGs (IFN-stimulated genes) であるので、ウイルス感染により ISGF3, GAF も活性化されると考えるのが妥当であるが、その経路は IRF3 の活性化で産生・分泌された IFN による IFN レセプター/JAK/STAT 経路を介したものと考えられる²⁾。しかし、感染により生じた何らかのウイルス特異的産物が別の経路で ISGF3, GAF を活性化する可能性も残されている。ウイルス NS1 タンパク質は宿主 mRNA の成熟を阻害し、IFNs や VSGs のタンパク質産生を抑制する。また、NS1 は dsRNA あるいはシグナル伝達分子に結合し、dsRNA からのシグナル発動を阻害する。

来するヒト細胞株を用いて、ウイルスの増殖性と Shut-off 能に関して調べたところ、両者の間には密接な相関があることが示された。ヒト気管支上皮由来細胞株 NCI-H292 細胞は Shut-off に対して抵抗性であったが、この細胞ではウイルスの増殖は約24時間で終息し、一過性であり、細胞は感染から回復することが示された (図4)。一方、ヒト肺胞上皮由来細胞株 A549 細胞は Shut-off に対する感受性が高く、MxA 遺伝子の発現も抑制されていた。この細胞では感染からの回復は見られず、ウイルスの増殖は、細胞が死に至るまで続いた。

ここで、免疫系を中心とした細胞外の抗ウイルス機構とは別に、感染細胞自身の細胞内部で感染により誘導される抗ウイルス機構が有効に働くことが示された。この機構の解明のためには、ウイルス感染における宿主遺伝子発現のダイナミクスを解析する必要があるが、最近、オリゴヌクレオチドのマイクロアレイ技術の進歩で、数万の遺伝子の発現を一枚のチップで一時に解析できる装置が利用可能になった。我々は Affymetrix 社の GeneChip 解析システムを用いて、インフルエンザウイルス感染に伴うヒト遺伝子の発現変動を解析している。

ウイルス抵抗性の H292 細胞において感染による発現変動を約2万種類の遺伝子について調べたが、感染12時間後に非感染細胞に比べて 4 倍以上の発現があった遺伝子 (VSG) が164個あった。それらの約60%は IFN-β により H292 細胞で誘導された遺伝子に含まれていた。IFN-β による発現が高かったものについて、ウイルス感染における発現のタイムコースを表 1 に示した。4 時間目から有意な発現増加を示した遺伝子が 7 個あった。IFN-β (IFNB1) は12時間目に誘導された。我々が用いた GeneChip による発現解析では細胞当たり10コピーの mRNA を十分に測定できるので、4-6 時間に発現が始まった VSGs に関しては IFN 非依存的に誘導されたものと考えられる。

表 2 インフルエンザウイルス抵抗性細胞と感受性細胞における遺伝子発現の比較

No.	Gene	Fold increase (log ₂) at 12 h p.i.		
		H292 ^a	A549 ^b	[A549] - [H292]
1	SAMHD1	5.7	0.6	-5.1
2	OAS2	4.9	-0.2	-5.1
3	STAT2	5.0	0.0	-5.0
4	IRF2	4.8	-0.1	-4.9
5	IFIT2	6.4	2.3	-4.1
6	CCL5	4.5	1.0	-3.5
7	ISG20	4.5	1.3	-3.2
8	MX1	6.0	2.8	-3.2
9	CXCL10	6.7	3.6	-3.1
10	OASL	4.0	1.1	-2.9

^a インフルエンザウイルス抵抗性細胞

^b インフルエンザウイルス感受性細胞

ウイルス抵抗性の H292 と感受性の A549 における遺伝子発現の感染応答を比較したところ、多くの VSGs で H292 に比べ A549 では発現が抑制されていた。抑制率の高い上位十位遺伝子を表 2 に示した。インフルエンザウイルス増殖抑制活性が示されている遺伝子、OAS2, ISG20 および MX1 (MxA) が含まれている。他の遺伝子については現時点では報告はないが、何らかの機序でウイルス増殖抑制に働く可能性があり、注目される。

おわりに

ウイルスと宿主の攻防は、まず遺伝子レベルで感染細胞内において繰り返される。進化の過程で、宿主はウイルスの増殖抑制に働く抗ウイルス遺伝子を作り出し、ウイルスはそれらに対抗する様々な機構を進化させた。ここで紹介したように、インフルエンザウイルスは NS1 により宿主遺伝子の発現を mRNA の成熟過程で阻害する独特な機構を持っており、宿主抗ウイルス遺伝子の発現とウイルスによるその抑制のバランスが感染の帰結を決定する。最近、歴史上最大の疫病ともいわれるスペインかぜウイルスやヒトに強毒性を示した1997年のトリ香港ウイルスの強毒性に関する研究が次々と報告されているが、その責任遺伝子として NS1 が挙げられている^{22), 23), 24), 25), 26)}。NS1 の宿主遺伝子発現抑制活性の変異で微妙な両者の拮抗のバランスが破綻したことが考えられる。細胞遺伝子の発現は細胞外部からの刺激で予想以上の変動を示す。今後、このバランスに影響を与える因子や薬剤の探索が創薬の一つの有望な方向になると予想される。

文 献

- 1) Samuel CE. : Antiviral actions of interferons. Clin Microbiol Rev 14 : 778-809, 2001.
- 2) Taniguchi T, Takaoka A. : The interferon-alpha/beta system in antiviral responses: a multimodal machinery of gene regulation by the IRF family of transcription factors. Curr Opin Immunol 14: 111-6, 2002.
- 3) Sarkar SN, Peters KL, Elco CP, Sakamoto S, Pal S, Sen GC. : Novel roles of TLR3 tyrosine phosphorylation and PI3 kinase in double-stranded RNA signaling. Nat Struct Mol Biol 11: 1060-7, 2004.
- 4) Takeda K, Akira S. : Microbial recognition by Toll-like receptors. J Dermatol Sci 34: 73-82, 2004.
- 5) Boehme KW, Compton T. : Innate sensing of viruses by toll-like receptors. J Virol 78: 7867-73, 2004.
- 6) Isaacs A, Lindenmann J. : Virus interference. I. The interferon. Proc R Soc Lond B Biol Sci 147: 258-67, 1957.
- 7) Isaacs A, Lindenmann J, Valentine RC. : Virus interference. II. Some properties of interferon. Proc R Soc Lond B Biol Sci 147: 268-73, 1957.
- 8) Der SD, Zhou A, Williams BR, Silverman RH. : Identification of genes differentially regulated by interferon alpha, beta, or gamma using oligonucleotide

- arrays. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 15623-8, 1998.
- 9) de Veer MJ, Holko M, Frevel M, Walker E, Der S, Paranjape JM, Silverman RH, Williams BR. : Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays. *J Leukoc Biol* 69: 912-20, 2001.
 - 10) Haller O, Kochs G. : Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity. *Traffic* 3: 710-7, 2002.
 - 11) Hovanessian AG. : Interferon-induced and double-stranded RNA-activated enzymes: a specific protein kinase and 2',5'-oligoadenylate synthetases. *J Interferon Res* 11: 199-205, 1991.
 - 12) Williams BR. : Signal integration via PKR. *Sci STKE* 2001: RE2, 2001.
 - 13) Espert L, Degols G, Gongora C, Blondel D, Williams BR, Silverman RH, Mechti N. : ISG20, a new interferon-induced RNase specific for single-stranded RNA, defines an alternative antiviral pathway against RNA genomic viruses. *J Biol Chem* 278: 16151-8, 2003.
 - 14) Chelbi-Alix MK, Quignon F, Pelicano L, Koken MH, de The H. : Resistance to virus infection conferred by the interferon-induced promyelocytic leukemia protein. *J Virol* 72: 1043-51, 1998.
 - 15) Kim MJ, Latham AG, Krug RM. : Human influenza viruses activate an interferon-independent transcription of cellular antiviral genes: outcome with influenza A virus is unique. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 10096-101, 2002.
 - 16) Shimizu K, Iguchi A, Gomyou R, Ono Y. : Influenza virus inhibits cleavage of the HSP70 pre-mRNAs at the polyadenylation site. *Virology* 254: 213-9, 1999.
 - 17) Nemeroff ME, Barabino SM, Li Y, Keller W, Krug RM. : Influenza virus NS1 protein interacts with the cellular 30 kDa subunit of CPSF and inhibits 3'end formation of cellular pre-mRNAs. *Mol Cell* 1: 991-1000, 1998.
 - 18) Noah DL, Twu KY, Krug RM. : Cellular antiviral responses against influenza A virus are countered at the posttranscriptional level by the viral NS1A protein via its binding to a cellular protein required for the 3' end processing of cellular pre-mRNAs. *Virology* 307: 386-95, 2003.
 - 19) Talon J, Horvath CM, Polley R, Basler CF, Muster T, Palese P, Garcia-Sastre A. : Activation of interferon regulatory factor 3 is inhibited by the influenza A virus NS1 protein. *J Virol* 74: 7989-96, 2000.
 - 20) Hatada E, Fukuda R. : Binding of influenza A virus NS1 protein to dsRNA in vitro. *J Gen Virol* 73 : 3325-9, 1992.
 - 21) Hatada E, Saito S, Fukuda R. : Mutant influenza viruses with a defective NS1 protein cannot block the activation of PKR in infected cells. *J Virol* 73: 2425-33, 1999.
 - 22) Basler CF, Reid AH, Dybing JK, Janczewski TA, Fanning TG, Zheng H, Salvatore M, Perdue ML, Swayne DE, Garcia-Sastre A, Palese P, Taubenberger JK. : Sequence of the 1918 pandemic influenza virus nonstructural gene (NS) segment and characterization of recombinant viruses bearing the 1918 NS genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 2746-51, 2001.
 - 23) Geiss GK, Salvatore M, Tumpey TM, Carter VS, Wang X, Basler CF, Taubenberger JK, Bumgarner RE, Palese P, Katze MG, Garcia-Sastre A. : Cellular transcriptional profiling in influenza A virus-infected lung epithelial cells: the role of the nonstructural NS1 protein in the evasion of the host innate defense and its potential contribution to pandemic influenza. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 10736-41, 2002.
 - 24) Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. : Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. *Nat Med* 8: 950-4, 2002.
 - 25) Cheung CY, Poon LL, Lau AS, Luk W, Lau YL, Shortridge KF, Gordon S, Guan Y, Peiris JS. : Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* 360: 1831-7, 2002.
 - 26) Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. : The NS1 gene of H5N1 influenza viruses circumvents the host anti-viral cytokine responses. *Virus Res* 103: 107-13, 2004.
 - 27) Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, Shinobu N, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, Akira S, Fujita T. : The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol* 5:730-7, 2004.

Expression of Host Genes in Influenza Virus Infected cells

Kazufumi Shimizu and Kazumichi Kuroda

Department of Immunology and Microbiology, Nihon University School of Medicine
30-1 Oyaguchikami-chou, Itabashi-ku, Tokyo 173-8610, Japan
E-mail : kazu@med.nihon-u.ac.jp

The NS1 protein of influenza virus shuts off host gene expression by inhibiting the polyadenylation-site cleavage of host pre-mRNAs, resulting in a general decline in cellular protein synthesis. On the other hand, an activation of several host genes related to host antiviral defense such as interferon- α/β , MxA, 2',5'-oligoadenylate synthetase, and Fas occurs upon infection. Therefore, balance of the shut-off and the activation of cellular genes during virus growth may be crucial in determining the outcome of infection. To obtain a comprehensive view of the global effects of influenza virus infection on human respiratory epithelial cells at the cytoplasmic mRNA level, we performed oligo DNA microarray analysis using GeneChip arrays (Affymetrix). In NCI-H292 cells infected with A/Udorn/72 virus, more than 4-fold increase of expression level was observed for 164 genes at 12 h pi. Approximately 60% of the virus-stimulated genes (VSGs) were also stimulated with interferon- β treatment and contained the genes known to possess antiviral activity. Interestingly, majority of the VSGs were stimulated before induction of interferons, suggesting that the stimulation of the VSGs during early phase of infection is not mediated by interferons, but it is triggered from within by the virus infection.