

表 1. 上野動物園で採集された吸血したアカイエカの吸血源動物の同定結果

吸血源動物	サンプル数	飼育場所*
鳥類 (合計)	57	
サンカノゴイ <i>Botaurus stellaris</i>	16	1
オグロヅル <i>Grus nigricollis</i>	6	6
アオサギ <i>Ardea cinerea</i>	5	1
ハシブトガラス <i>Corvus macrorhynchos</i>	5	
ケーブペンギン <i>Spheniscus demersus</i>	4	7
ホオカザリヅル <i>Bugeranus carunculatus</i>	3	6
オオワシ <i>Haliaeetus pelagicu</i>	3	2
スズメ <i>Passer montanus</i>	3	
イヌワシ <i>Aquila chrysaetos</i>	2	2
ネパールワシミミズク <i>Bubo nipalensis</i>	2	2
シジュウカラ <i>Parus major</i>	2	
チョウゲンボウ <i>Falco tinnunculus</i>	1	2
ハゲトキ <i>Geronticus calvus</i>	1	
ハゲワシ <i>Gyps africanus</i>	1	
ソリハシセイタカシギ <i>Recurvirostra avosetta</i>	1	
フクロウ <i>Strix uralensis</i>	1	2
アフリカクロトキ <i>Threskiornis aethiopicus</i>	1	4
哺乳類 (合計)	20	
ウシ <i>Bos taurus</i>	15	9
ユーラシアカワウソ <i>Lutra lutra</i>	2	3
ニホンザル <i>Macaca fuscata</i>	1	8
タヌキ <i>Nyctereutes procyonoides</i>	1	5
ホッキョクグマ <i>Ursus maritimus</i>	1	
同定不可	54	
合 計	131	

\*図 1 参照。

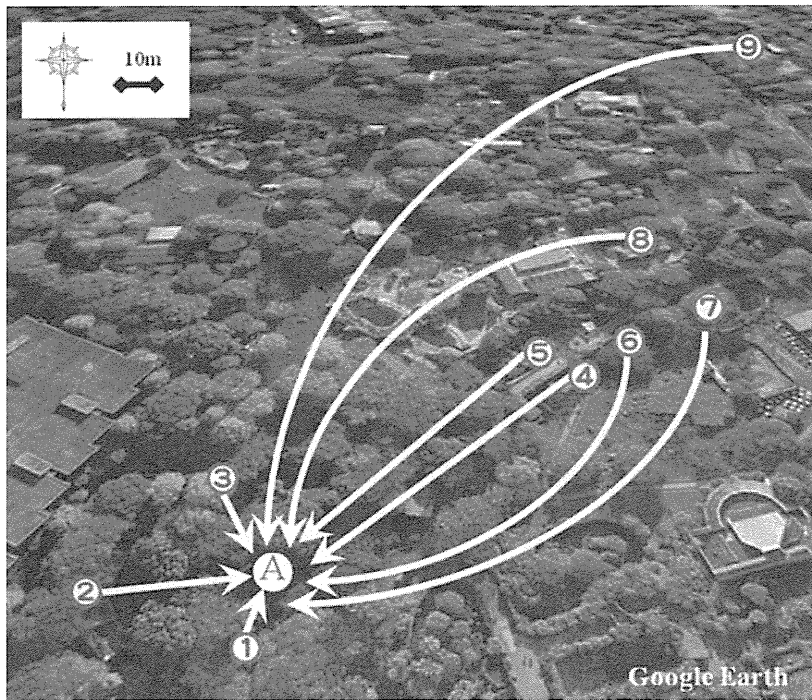


図 1. 吸血したアカイエカの採集場所と吸血源となった飼育動物の位置関係. 番号は表 1 の飼育場所に対応している。

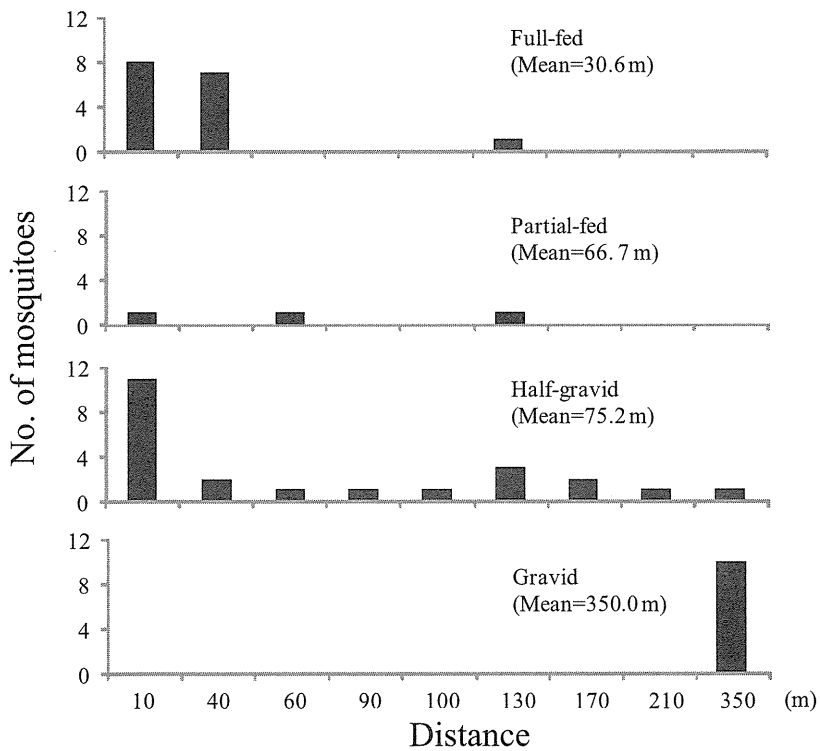


図 2. 吸血したアカイエカの採集された場所と吸血源となった飼育動物の飼育ケージとの距離の頻度分布

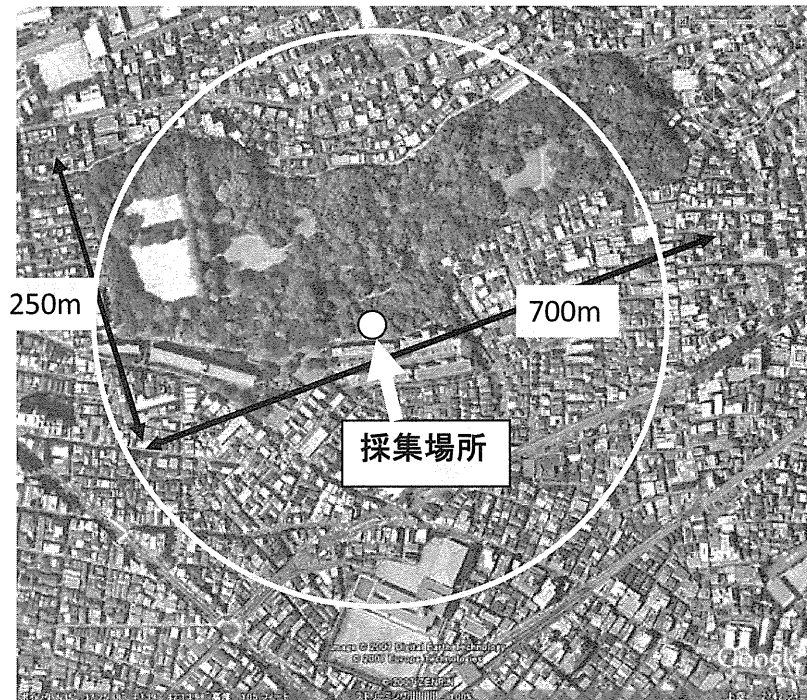


図 3. 東京都立林試の森公園で捕虫網採集を実施した場所と吸血したアカイエカの推定飛来範囲（円）の関係

表 2. 東京都立林試の森公園で 2007 年に採集された蚊の種類と吸血蚊の総数

種 類	吸血蚊				合計
	Full	Partial	Half gravid	Gravid	
ヒトスジシマカ	71	133	236	9	449
アカイエカ	91	25	132	75	323
トラフカクイカ	2	5	17	6	30
ヤマトクシヒゲカ	9	1	5	4	19
ハマダラナガスネカ	1	0	2	7	10
オオクロヤブカ	0	0	0	0	0
アカツノフサカ	0	0	0	0	0

厚生労働科学研究費補助金(医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
「血液製剤の安全性確保と安定供給のための新興・再興感染症の研究」  
(H23-医薬-一般-003)

## 分担研究報告書

### デングウイルス感染による宿主側応答の解析

研究分担者 田島茂(国立感染症研究所 ウイルス第一部 主任研究官)

デングウイルスにより引き起こされるデング熱・デング出血熱は、ウイルス媒介蚊の生息する世界中の熱帯・亜熱帯地方において年間数千万～1億人が感染していると推定され、その感染者の多さや重篤度から世界で最も深刻なヒト感染症の一つに挙げられる。しかしワクチンはいまだ開発途上にあり、感染防御は困難である。デング熱の多くは高いウイルス血症を呈することから、蚊や輸血を介したウイルス伝搬には注意を要する。

デングウイルスは他の近縁のフラビウイルス(日本脳炎やウエストナイルウイルス)に比べ *in vitro* での増殖能は低いにもかかわらず患者では逆により高いウイルス血症を誘導する。しかしその機序については不明な点が多い。

本研究では、なぜデングウイルスが高いウイルス血症を呈するのか、その機序を解明するための第一歩として、デングウイルスと日本脳炎ウイルスとの間でウイルス感染細胞内での遺伝子発現動態を比較した。

#### A. 研究目的

米国において輸血や臓器移植によるウエストナイルウイルス感染例が報告されていることから、移植組織におけるフラビウイルス検査は非常に重要である。ウエストナイルウイルスと同じフラビウイルス属に属するデングウイルスは、デング熱およびデング出血熱の原因ウイルスである。世界100か国以上で年間数千～1億人がデングウイルスに感染し、患者数は4千万人以上に上り2万人が死亡していると推定されている。デングウイルスは

1～4型の4種の血清型群からなり、ときに以前と異なる型のデングウイルスに感染した場合に、より重篤度の高いデング出血熱に至る可能性が高くなる。これは中和能のないあるいは弱い抗デング抗体により引き起こされる抗体依存的感染増強が主要因と考えられている。デング熱は熱帯・亜熱帯地域に生息する蚊であるネッタイシマカにより伝搬され、ヒト-蚊で生活環が成立している。

デング感染症患者は他のフラビウイルスに比べ *in vitro* での増殖能は低

いにもかかわらず、患者では逆に高いウイルス血症を誘導する。しかしその理由・機序については不明な点が多い。本研究では、なぜデングウイルスが高いウイルス血症を呈するのか、その原因・機序を解明するための第一歩として、デングウイルスと日本脳炎ウイルスとの間でウイルス感染細胞内での遺伝子発現動態を比較した。

## B. 研究方法

感染細胞中の遺伝子動態の変化は DNA マイクロアレイ法によりおこなった。ヒト肺がん由来細胞 A549 細胞およびマウス肝がん由来細胞 Hepa 1-6 細胞にデング 1 型ウイルス (NIID02-20 株) および日本脳炎ウイルス (Mie/41/2002 株) を multiplicity of infection が 2 になるように感染させた。感染後 24、48、72 時間後に細胞を回収し全 RNA を抽出した。得られた RNA について、3D-Gene system によりマイクロアレイ解析を行った (マイクロアレイ解析は東レ株式会社に委託した)。得られた遺伝子発現データについてクラスター解析等を行った。また両ウイルス感染細胞での発現上昇が顕著であったものを抽出し、ウイルス間および細胞間で比較した。ヒト A549 細胞において、デングウイルス感染でより顕著な発現上昇が観察された遺伝子 C1s については、新たに遺伝子増幅用プライマーを作製しリアルタイム RT-PCR 法により発現変化を確認した。さらに培養上清中の C1s は抗 C1s 抗体を使用してウエスタンブロー

ット法により検出した。A549 以外のヒト由来細胞として、ヒト肝がん由来 Huh-7 細胞を使用した。他の血清型のデングウイルスとして、デング 2 型ウイルス (Hu/OPD030NIID)、デング 3 型ウイルス (CH53489)、デング 4 型ウイルス (TVP360) を使用した。

## C. 研究結果

2 万以上のプローブを用いた DNA マイクロアレイ解析により、両ウイルス感染細胞中における遺伝子発現プロファイルを得ることができた。クラスター解析により変動の大きかった遺伝子を分類した (しかし遺伝子が数百以上になるため解析データは省略する)。各細胞 - ウイルス - 時間パターンにおける発現上昇遺伝子 top 100 を表 1~3 にまとめた。変動の見られた遺伝子および変動の大きさは Hepa 1-6 細胞よりも A549 細胞で顕著であった。顕著な増加を示した遺伝子は、1) インターフェロン応答・関連遺伝子 (OAS, Mx, ISGs, IFITs, IFIs, IRFs)、サイトカイン・ケモカイン、TREM/TRIM、STAT、RIG-I などであった。これらの遺伝子の多くは、日本脳炎ウイルス感染細胞の方が早く誘導されてきたが、異なるパターンを示す遺伝子も見られ、それほど単純ではないことが明らかとなった (図 1)。

日本脳炎ウイルス感染よりもデング 1 型ウイルス感染でより顕著に発現上昇が観察された遺伝子を抽出し、表 4 にまとめた。筆頭の PLAT (tissue plasminogen activator; tPA) はすでにデ

ングウイルス感染ヒト上皮細胞から分泌されることが明らかとなっており、さらにデング感染症の重症化過程で血清中の PLAT 量の明らかな増加が観察されている。2 番目に顕著であった補体因子 C1s についてはリアルタイム RT-PCR 法により確かに RNA レベルで発現量の上昇がみられることを確認した (図 2)。同様の結果は別のヒト細胞(Huh-7)でも確認された (図 3)。さらに発現上昇は蛋白質レベルでも確認された (図 4)。次に C1s の誘導が今回用いたデング 1 型ウイルス株に特異的でないことを証明するため、他の血清型群のデングウイルスについてもリアルタイム RT-PCR 法およびウエスタンブロット法により調べた (図 5)。先のデング 1 型ウイルスでの結果と同様に C1s の RNA レベル、蛋白質レベルでの発現誘導が確認された。

#### D. 考察

今回の研究により、デングウイルス感染により遺伝子発現が変動する遺伝子群を網羅的に抽出することに成功した。顕著発現上昇の見られた遺伝子のほとんどは、すでにインターフェロンにより誘導されることが明らかな遺伝子であった。これらについてはすでに報告もあり、今回はそれ以上の解析対象とはしなかった。今回はヒト A549 細胞とマウス Hepa 1-6 細胞を用いたが、ヒト細胞の方が、発現が変動する遺伝子の数および変動の大きさが大きかった。これは、A549 細胞の方が両ウイルスの感染・増殖が良い

ためだと考えられる。また多くの遺伝子で日本脳炎ウイルスの方がデング 1 型ウイルスよりも発現変動が早いかつ大きかった。これは日本脳炎ウイルスの方がデング 1 型ウイルスよりも増殖速度が速いためと考えられる。そのような状況の中でも、デング 1 型ウイルス感染の方がより発現上昇が顕著であった遺伝子も見出された。これらのうちで最も顕著であった PLAT については、すでにデング熱患者でもその上昇は報告されていることから、今回の解析で新たな因子を見出せる可能性があるものと期待している。次いで顕著であった補体因子 C1s については、他の血清型群のデングウイルス株でも誘導が確認された。最近の論文では、補体因子がデング感染症において重要な役割を果たしている可能性が示唆されており、C1s もデングウイルスがコードする非構造蛋白質 NS1 と相互作用し、ウイルス感染による補体経路の活性化に干渉しているとの報告もある。C1s の上昇がデング感染症の病態に関与する可能性について研究を進めてゆくと同時に、他の候補遺伝子についても詳細な解析を進めてゆく予定である。

#### E. 結論

DNA マイクロアレイ解析により、日本脳炎ウイルス感染よりもデングウイルス感染の方がより顕著に誘導される遺伝子を抽出することに成功した。

F. 健康危険情報  
特になし

G. 研究発表  
論文発表 (英文)

- 1) Yamaguchi, Y., Nukui, Y., Tajima, S., Nerome, R., Kato, F., Watanabe, H., Takasaki, T., and Kurane, I. An amino acid substitution (V3I) in the Japanese encephalitis virus NS4A protein increases its virulence in mice, but not its growth rate in vitro. *Journal of General Virology* 92: 1601-1606, 2011.
- 2) Kato, F., Kotaki, A., Yamaguchi, Y., Shiba, H., Hosono, K., Harada, S., Saijo, M., Kurane, I., Takasaki, T., and Tajima, S. Identification and characterization of the short variable region of the Japanese encephalitis virus 3' NTR. *Virus Genes* (in press).

学会発表  
国際学会

- 1) Yamaguchi, Y., Kotaki, A., Sawabe, K., Watanabe, H., Kurane, I., Takasaki, T., and Tajima, S. Effects of a single amino acid substitution (S123N) of the Japanese encephalitis virus E protein on its growth in vitro. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. Sapporo, Japan. Sept., 2011.

国内学会

- 1) 左一八、田島茂、高崎智彦、倉根一郎、森田公一、鈴木隆：病原性の異なる日本脳炎ウイルス株の硫酸化糖鎖認識 第46回日本脳炎ウイルス生態学研究会 金沢 2011年5月
- 2) 鎌田龍星、星野啓太、伊澤晴彦、田島茂、高崎智彦、佐々木年則、小林睦生、沢辺京子：イエカ属蚊の初代培養 第18回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会 東京 2011年11月

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

表1 発現上昇遺伝子 TOP 30

A549						Hepa 1-6					
D1 24h	D1 48h	D1 72h	JEV 24h	JEV 48h	JEV 72h	D1 24h	D1 48h	D1 72h	JEV 24h	JEV 48h	JEV 72h
-	MX1	IFIT2	IFIT2	IFIT2	IFIT2	1	IGKV8-30	9030416H16Rk	ifit1	ifit1	ifit1
CSAG3B	IFIT2	OASL	OASL	OASL	OASL	2	Pramel6	Lrrtm3	D14Ertid668e	D14Ertid668e	D14Ertid668e
RBM1D	IFIT1	IFIT1	IFIT1	IFIT1	CCL4L1	3	Arhgdib	Amot1l	Mpa2l	Ifi205	Ccl5
HIST1H2AL	OASL	MX1	IFIT1	IFIT3	CCL4L1	4	Rapsn	Ckap5	2310016F22Rk	2310016F22Rk	Ccl5
ICAM4	IFIT1	IFIT3	IFIT3	IFNB1	IFIT3	5	Gm371	Aoah	-	ifnb1	Oas2
OASL	IFIT3	IFIT1	HSPA6	CCL4L1	IFIT1	6	Tmem52	Oifr1341	Gbp3	-	Trim30
C11orf35	NP 997198.2	IF16	MX1	CCL4L1	CH25H	7	Btc	Slc10a5	Oas2	Gbp3	Mpa2l
IFIT1	IF16	NP 997198.2	-	IFIT1	IFNB1	8	Stac	Epha4	Trim30	Ccl5	2310016F22Rk
STON1	IFI16	IFI16	CXCL10	CH25H	Q7Z7L8_HUMAN	9	Asb4	D14Ertid668e	-	Gbp2	Ifi205
IFIT1	IFI16	IFI44	IL8	CXCL11	IFIT1	10	D6Mm5e	-	Slc10a5	Mpa2l	Gbp3
MX1	IF16	IF16	IF16	IL28B	CXCL11	11	ENSMUSG00000055015	-	Tigsd4	lipo2	BC013672
BTF3L1	IFI44	CFAB HUMAN	ISG15	-	ISG15	12	Gng10	Oifr898	lipo2	Fbxo39	Sfn2
IFIT2	NP 997198.2	IFI16	IL28B	CXCL10	IL28B	13	Ctsc	2310016F22Rk	lipo2	lipo2	Gbp2
ZNF445	CXCL10	CXCL10	IFNB1	Q7Z7L8_HUMAN	IL8	14	Oifr135	B630005N14Rk	9230105E10Rk	Tyki	Csprs
KRTAP8-1	GBP1	CXCL11	PPP1R15A	ISG15	CXCL10	15	Ptger3	Pdzd3	Mpa2l	Oas2	BC013672
SERPINA3	ISG15	GBP1	CXCL11	IL8	CCL20	16	Fhii	-	Gbp6	Trim30	Sfn2
TMEM100	TRIM22	IL8	NP 997198.2	IFI16	IFI16	17	-	Golgb1	-	-	Gbp2
ZP4	PARP9	Q7Z7L8_HUMAN	IFI16	CCL20	-	18	Hist1hle	Ccdc19	Sfn2	-	Gbp6
IFI6	IL8	CH25H	DDIT3	PPP1R15A	IFI44	19	Mov101l	Jarid1a	Gbp2	-	Gbp6
PLAT	RIG-1	CCL20	HERC5	IFI44	NP 997198.2	20	LOC871064	Cad	Ctsf	Stat2	Tyki
C17orf46	HERC5	ISG15	RIG-1	HERC5	IFI6	21	Lyz1l	Mpa2l	lipo2	Rsad2	Tyki
DEFB108B	BST2	IL28B	MOGAT3	IFI6	HERC5	22	Rad51	Ctsf	Jarid1a	lipo2	Mpa2l
LUZP4	NP 060101.2	TRIM22	ATF3	NP 997198.2	OR911	23	Asx13	Slc25a30	Fbxo39	Trim12	lipo2
GSTA1	HSPA6	GBP3	IFI44	OTUD1	OTUD1	24	Oifr311	Jmid1c	-	Oas1a	Fbxo39
DSG4	TLR3	NP 997198.2	IFI16	GBP5	MX1	25	Nr2f6	Phkb	Golgb1	lipo2	lipo2
DDIT3	CXCL11	HERC5	FUT1	OR911	IFI27	26	-	Mpa2l	BC013672	-	Ifna4
PTPRB	Q7Z7L8_HUMAN	CCL4L1	JUN	MX1	GBP5	27	-	Ptgp	BC013672	lipo2	Stat2
TRAF3IP3	GBP3	BST2	CCL4L1	TNFAIP3	RSAD2	28	Rad52	Cabc1	Gnc3	1700016L04Rk	Ifb1
PROK2	SAMD9	IFNB1	SAMD9	ATP4A	PPP1R15A	29	Ctsq	Thsd4	Tatp	Mx2	lipo2
-	CCL20	RIG-1	CH25H	RIG-1	CFAB HUMAN	30	-	-	Isrf3g	Tatp	-

表2 発現上昇遺伝子 TOP 31 - 60

A549						Hepa 1-6					
D1 24h	D1 48h	D1 72h	JEV 24h	JEV 48h	JEV 72h	D1 24h	D1 48h	D1 72h	JEV 24h	JEV 48h	JEV 72h
-	CFAB HUMAN	CCL4L1	CCL4L1	-	KRT17	31	-	Gng10	Gnc6a	Ifna4	Oas1a
OR8G2_HUMAN	PARP14	TNFAIP3	NP 997198.2	CXCR4	RIG-1	32	Via	Cfar	Cad	-	Trim12
FAM83A	TMEM140	IFITM1	NP 060101.2	CFAB HUMAN	TNFAIP3	33	Sp8	Trim30	Csprs	-	-
C10orf68	-	-	TNFAIP3	RSAD2	-	34	Kcns3	Slc16a12	-	Sfn2	Tatp
-	BATF2	TLR3	IFI27	HSPA6	IFI16	35	6330530A05Rk	-	lipo2	Oas1a	Ifnb1
Q6ZSU1_HUMAN	-	PPP1R15A	-	IFI27	-	36	Mrap	Gnc3	-	Parp14	Oas1a
SOX10	PR285_HUMAN	PARP9	OR911	-	NP 060101.2	37	Jrfgbl1	Gbp6	Ptgp	Gvin1	Phex
MBP	IFNB1	IFI44	PARP9	CXCL1	ATP4A	38	Oifr1259	Sfn2	BC057170	Tatp	9230105E10Rk
-	IRF1	CXCL1	AADACL2	PLEKHA4	GBP1	39	Ccdc54	Isrf3g	Tyki	-	Mx2
-	TNFSF10	SAMD9	TSC22D3	RAD21L1	C15orf48	40	Nipa1	Rnase1	B630005N14Rk	Parp14	Oifr708
MOGAT3	IRF1	TMEM140	BOLL	NP 060101.2	IGF2	41	4731417B20Rk	Rp2h	Ddx6	9230105E10Rk	9230105E10Rk
CU090_HUMAN	IL28B	NP 060101.2	MOG HUMAN	IGF2	CXCL1	42	-	Oas1a	-	Ifna4	-
TSNAXIP1	IFITM1	APOL1	HERPUD1	IRF1	DDIT3	43	Kbtbd10	Ptk1	Q45KJ6-4	Csprs	BC057170
FPRL2	PARP12	IRF1	MMP13	DDIT3	CXCR4	44	Hvgn1	-	Gvin1	-	Bst2
NP_001010845.1	DTX3L	-	SESN2	IRF1	SPRY2	45	Oifr1278	6330530A05Rk	Trim34	Tor3a	-
CH012_HUMAN	CH25H	RSAD2	CXCL2	NFKB1Z	ATF3	46	Ncapd3	Pcdhb17	Alah6a1	Gbp6	-
-	UBE2L6	PLA1A	-	KLRC1	RGAG1	47	Usp11	Arhgan29	Trim12	Oas1l	Herc5
FCRL5	TNFAIP3	UBD	RAD21L1	CXCL2	CCL3L3	48	Gm414	Csprs	-	BC013672	Ifi2
TFAP4	APOL1	HSPA6	SPINT1	LGP2_HUMAN	IRF1	49	Tpr	Lamp2	Phvhd1	Osg1c	Tap1
-	HERC6	GBP3	OR9Q1	KRT17	IL6	50	OTTMUSG00000000990	-	lipo1	Mpa2l	Trim34
HERPUD1	-	IRF1	LHX5	ATF3	IRF1	51	Fat6	Ddx6	Mpp7	Herc5	Oas2
LRRC6	PPP1R15A	LOC272728	CCL20	SPRY2	CXCL2	52	6530409C15Rk	Gas6	2610510H03Rk	Sstvl	-
SIT1	IFI44L	PLEKHA4	TRIB3	LRRN3	FZD4	53	-	Ypel3	Stat2	Hap1	Irgm
TECTA	CXCL1	GBP5	HSPA1B	IL23A	PLEKHA4	54	NP_001004153.1	Baz2a	-	Ifi6	BC020489
OR8G1	GBP3	PARP14	CAMK1G	FZD4	NP 997198.2	55	Gm1082	Fbxl20	Eva1	D11Ertid759e	BC057170
RASL12	PSB9_HUMAN	-	OMT3	JUN	NFKB1Z	56	Trm7sf4	Aldh6a1	-	Tnfsf10	D11Lgp2e
AMICA1	OR911	TNFSF10	DNAJB9	FYN	FYN	57	Serpina10	Tsc22d3	Jmid1c	-	Parp14
FOXR2	C11orf35	BATF2	CXCL1	IFI16	SAMD9	58	Mesp1	Sh3rf2	Serpind1	BC020489	B630005N14Rk
DNAH8	APOL6	CTSS	IL13RA2	PPM1K	IL23A	59	Cat1a	Ankhd1	Lamp2	Trim34	NP_001033016.1
DMD	NP 612411.3	C3	CYP3A43	GBP1	KCNV1	60	-	Arid4a	Bst2	Ifih1	Ube2l6



表3 発現上昇遺伝子 TOP 61 - 100

A549						Hepa 1-6						
D1 24h	D1 48h	D1 72h	JEV 24h	JEV 48h	JEV 72h	D1 24h	D1 48h	D1 72h	JEV 24h	JEV 48h	JEV 72h	
	CCL4L1	OTUD1	PPM1K	CXCL3	GBP3	61	ENSMUSG0000053615	Qas2	Parp14	Isg20	BC057170	-
ORI0J5	Q8N8K0 HUMAN	C11orf35	HSPA1A	KCNV1	NP_001001435.1	62	Dync1i1	A930001N09Rk	Slc16a12	Usp18	Iigp1	-
Q9PIB8 HUMAN	PLA1A	PPM1K	-	RGAG1	HSD17B7P2	63	Podxl2	Dchs2	Txnip	S830484A20Rk	Gvin1	D11Lgp2e
PRDM7	IFI35	PARP12	RF1	NFKBIA	PPM1K	64	4930451C15Rk	Myst3	Tate	BC057170	Tgfb	Isgf3g
PNMA3	SP110	ORB1	GBP1	PMAP1	LG2 HUMAN	65	Armcx3	Cpne3	-	Qas12	Parp9	LincR
GACNA1S	Q5H9U9 HUMAN	UBE2L6	SULT2A1	HSD17B7P2	NCF2	66	Otof	Nfib	Qas1a	Serpinh1	-	Ube2f6
PTPR	IRF7	HLA-H	PR285 HUMAN	RHCG	PMAP1	67	Nefl	-	Arhgap29	Parp12	Isgf3g	AI607873
-	CCL4L1	NP_612411.3	NP_001003808.1	RHCG	NP_997198.2	68	Ehd3	Actn2	Dchs2	Ube2f6	H2-T24	Zcchc11
HES3	-	CXCR4	HERC6	TNFRSF9	KLRC1	69	Flt1	EfnA2	Parp9	BC057170	Ifih1	Ddk6
-	SAMHD1	RAD21L1	Q7Z7L8 HUMAN	PMAP1	PMAP1	70	ENSMUSG0000056106	Gdn1b	Kenip2	Traf1d	Parp14	Jmid1c
GACNA1F	LAMP3	ATP4A	ADORA3	SAMD9	JUN	71	Micalc1	Sh2d3c	Rpl1b	Irgm	AI607873	Enpp4
SIPAL12	PSB8 HUMAN	EFNA1	RFPL1	NR2F1	NP_001001435.1	72	Ero1l	Serpinb11	-	LincR	Qas1b	-
COL21A1	MX2	IL23A	BST2	PTGER4	HSPB8	73	Bhhb4	-	Lrrtm3	Isgf3g	Isg20	AI481105
HOX2	PLEKHA4	NFKBIZ	-	ISG20	BCL2A1	74	Mtap2	Piscr4	-	-	Parp12	S830484A20Rk
SPATA4	SP100	-	NFKBIZ	NP_001001435.1	ISG20	75	Pole	BC004022	BC057170	Lcn5	AI481105	Jarid1a
TGM4	NP_954590.1	PSB8 HUMAN	NP_009007.2	CSAG3B	LRRN3	76	I1810024B03Rk	Aldoc	Rnasel	Adar	Qas1b	IIG
ZNF804A	ATF3	HERC6	CFAB HUMAN	CSAG3B	RAD21L1	77	Gtf3a	Pcmtd1	2010106G01Rk	Parp9	Psmb9	Parp12
BMPFR	USP18	ATF3	C10orf27	BBC3	SDC4	78	Ece1l	Ankrk26	Gm207	-	S830484A20Rk	Psmb9
IFI1H4A	Q8N862 HUMAN	Q9BZY9-2	OTUD1	TNFAIP6	CSAG3B	79	Slc1a1	Marcks	Ypel3	EG215714	Nupr1	Parp9
IFI1B	NFKBIZ	MEFV	LG2 HUMAN	CXCL3	CXCL3	80	Hmb2h1	Slc25a31	BC018485	Qas1b	Slc10a5	Parp14
REC8L1	LOC72728	FRMD5	CSRP3	C15orf48	NFKBIA	81	Rbpsiul1	LOC631639	Nrip1	BC094916	D11Erd759e	BC020489
C11orf40	EFNA1	PTGS2	RELB	FAM46A	KLF2	82	Klf7	Klfh24	Tsc22d3	-	Golgb1	-
INSM2	STAT2	HCP5	BIRC3	ULBP2	LCN2	83	A430060F13Rk	Nrip1	Kitl	Cgr2	Sectm1a	Ifih1
TPD52L3	TRIM6	-	IRF1	NP_001001435.1	TNFAIP6	84	-	-	-	Sp100	-	-
IGHV3-13	REC8L1	NOX1	ALS2CR7	BST2	CX3CL1	85	Glt6d2	Ntn4	Smad5	AI481105	-	Usp18
C10orf80	PTGS2	HLA-C	HERC6	HSPB8	PTGER4	86	9130017N09Rk	Mpp7	Zfp40	AI607873	Usp18	-
NP_001004329.2	UBE1L	IRAK2	-	IL6	BST2	87	4833402N03Rk	Rpl1h	Mamdc1	-	Rnasel	-
PEPPI HUMAN	USP18	PLAT	PMAP1	CITED2	QPR109B	88	9530053A07Rk	Pdk1	Fbxl20	Rtp4	Cpd	C030004A17Rk
ORSAT1	PLAT	LAMP3	-	BEST1	CSAG3B	89	-	Txnip	Cdh10	Ifih1d	Spr2e	Golgb1
TRIM54	CECR2	MX2	LEMD1	HERC6	CITED2	90	A1fml1	Pkd1l1	Ypel3	BC048507	Dtd3	Casp4
NMUR2	TAP1	Q6JWJ0 HUMAN	TMEM140	SDC4	IFITM1	91	-	Rif	Tagl	-	Jmid1c	BC004022
RASIP1	CXCL2	NP_954590.1	BATF2	KLF2	HSPA6	93	Xpnpn2	D930010J01Rk	Klfh24	Bst2	BC004022	39336
NP_997211.2	NLRCS	C1S	-	PRDM6	ULBP2	94	-	2010106G01Rk	Arid4a	Mnda	Rnasel	C2
NIM1 HUMAN	CEACAM1	-	NP_997199.1	NCAALD	FAM46A	95	-	Garc6a	Thsd4	D11Lgp2e	S330175E14Rk	Tor3a
ZNF491	QAS3	UBE1L	NCF2	KIAA1822	NCF2	96	Wdr16	9030612M13Rk	Irgm	Ortn3	AI451617	Mnda
VIPR2	NMI	Q8N8K0 HUMAN	ATP4A	STX11	BBC3	97	Ros12	BC057170	Cflar	Sp8	Dtx3l	-
-	RARRES3	CXCL5	HSD17B7P2	BIRC3	TMEM140	98	Got1l1	Kitl	Pcmtd1	LincR	Qas1f	BC004916
CJ110 HUMAN	LG2 HUMAN	APOL6	TNFSF10	CSAG3B	NR2F1	99	Rgs4	Adc	Qas12	Psmb9	Psmb8	Qas1f
CASP4	IRAK2	-	SEC24D	RELB	TNFRSF9	100	V1rh8	Myo18a	Phkb	IFI35	Tor3a	Sectm1a

表4 DENV-1感染でのみ発現上昇が顕著であった遺伝子 (A549)

Gene	D1 24h		D1 48h		D1 72h		JEV 24h		JEV 48h		JEV 72h	
	Ratio	up	Ratio	up	Ratio	up	Ratio	up	Ratio	up	Ratio	up
C11orf35*	5.8	**	16.4	***	22.0	***	1.0		0.8		0.8	
PLAT	2.9	*	10.6	***	14.7	***	0.8		0.8		1.0	
C1S	1.1		5.0	**	13.9	***	0.8		1.5		1.7	
LGALS3BP	0.8		8.4	***	12.9	***	0.8		1.7		2.6	*
Ceruloplasmin precursor	1.0		6.4	**	10.5	***	0.7		0.9		0.9	
SMOC1	1.0		5.2	**	10.5	***	0.8		1.1		1.8	
TRIM6	1.1		11.2	***	7.5	**	1.6		1.3		1.9	
TGM2	0.9		7.0	**	6.3	**	0.8		0.8		0.8	
NP_954590.1	1.0		12.6	***	13.9	***	1.5		2.8	*	3.9	*
ASS1	1.3		2.7	*	11.4	***	1.2		2.0	*	3.3	*
SP110	1.2		14.7	***	11.2	***	3.5	*	2.0		3.1	*
SNAP25	1.2		5.6	**	11.1	***	1.2		2.0		3.1	*
NM_139266	1.0		8.3	***	8.2	***	1.6		1.9		2.2	*
NP_060851.1	1.1		7.0	**	5.9	**	1.3		1.4		1.6	
OAS1	1.0		6.2	**	5.7	**	1.8		2.3	*	2.9	*
IFNGR1	1.1		3.2	*	5.4	**	1.1		2.2	*	1.7	
CFHR1P	1.0		5.0	**	5.2	**	0.9		0.9		0.8	
TAP2 HUMAN	1.1		6.4	**	5.0	**	1.1		1.7		1.8	
YIF1B	1.6		4.2	**	4.9	**	1.0		0.7		0.7	
LAP3	1.0		5.3	**	4.6	**	1.2		1.1		1.2	
ZNF138	1.5		3.5	*	4.6	**	0.7		0.7		0.6	
ADH4	1.2		2.8	*	5.3	**	0.7		0.7		0.5	
CD68	1.1		3.8	*	4.4	**	0.8		1.1		1.2	
FN1	1.1		3.4	*	4.2	**	1.0		1.6		1.4	
STAT1	0.8		4.8	**	3.9	*	1.0		1.0		1.6	
C4B	1.2		7.4	**	11.4	***	1.6		3.8	*	4.7	**
GAPDH	0.9		0.8		0.5	#	0.7		0.5	#	0.3	#

\* C11orf35のプロープはDENV-1と結合する可能性が高い。

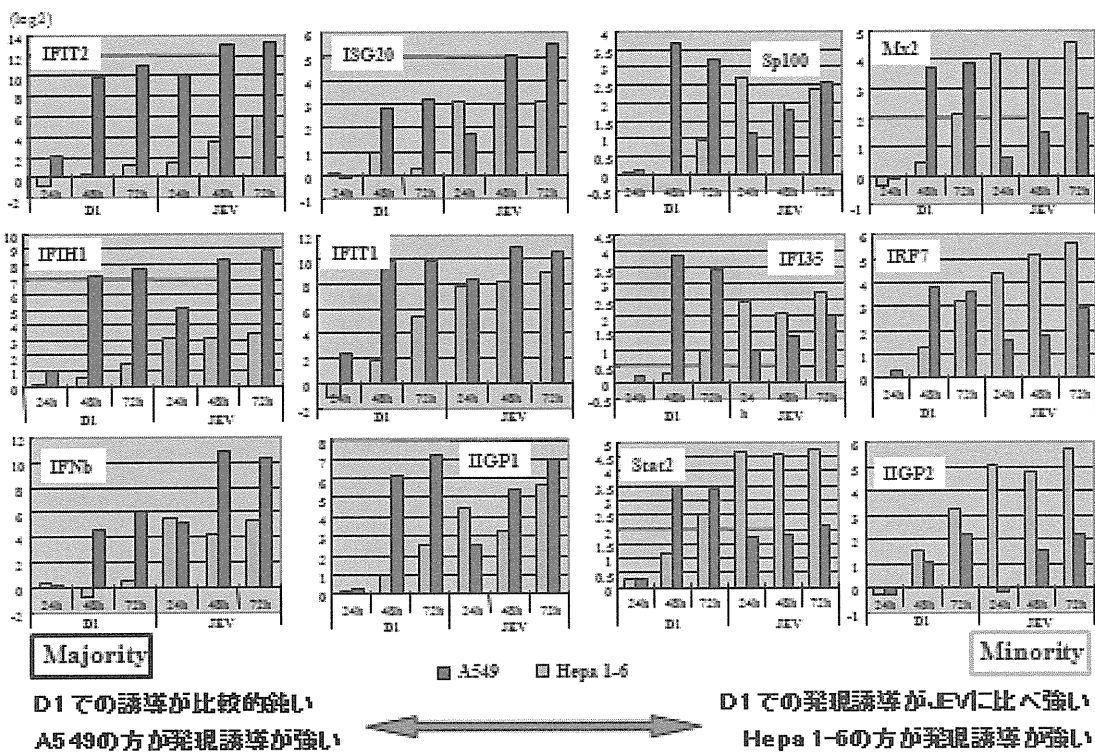


図1 異なる発現誘導パターンの比較

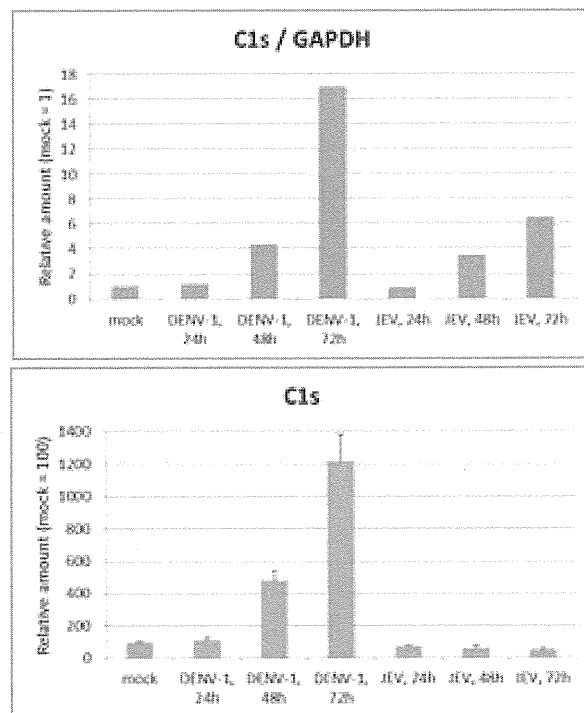


図2 Real-time PCR法によるC1s遺伝子発現量の定量(A549)

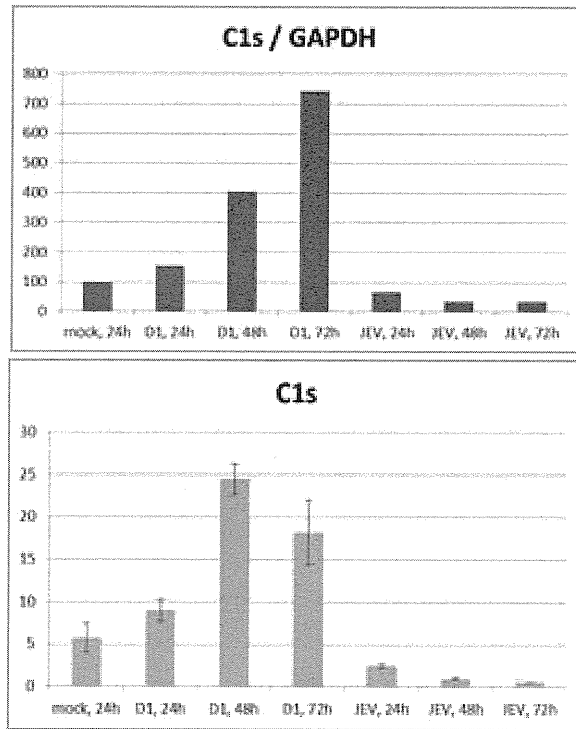


図3 Real-time PCR法によるC1s遺伝子発現量の定量(Huh-7)

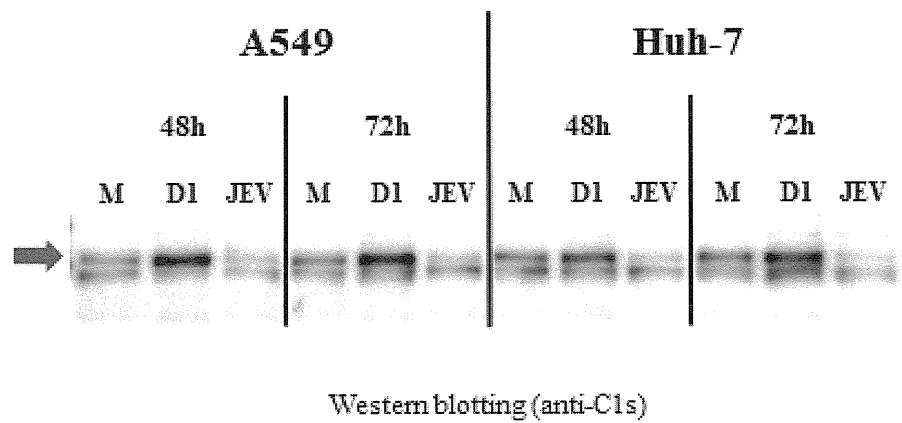


図4 培養上清中に分泌されたC1s蛋白質の検出

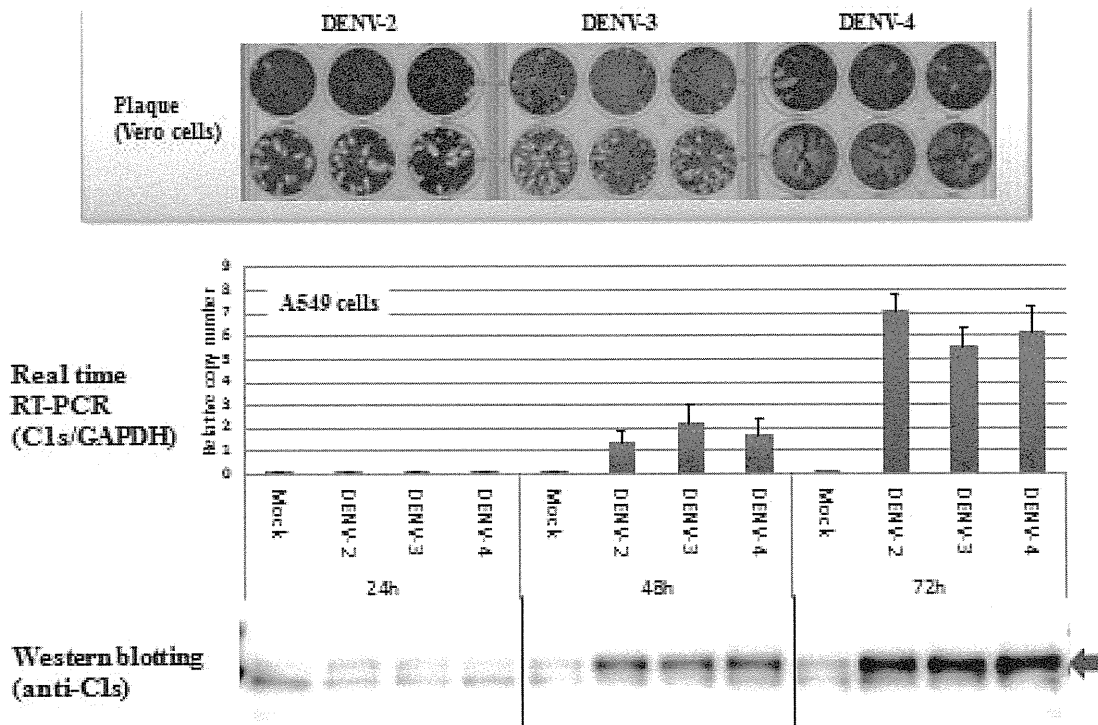


図5 DENV-1以外のDENVによるC1s遺伝子発現の誘導

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato, F., Kotaki, A., Yamaguchi, Y., Shiba, H., Hosono, K., Harada, S., Saijo, M, Kurane, I., Takasaki, T., and Tajima, S.	Identification and characterization o the shor variable region of the Japanese encephalitis virus 3' NTR.	Virus Genes	44	191-197	2012

