

Intracellular Signaling Pathway for Host Defense Mechanisms against Piscine Nervous Necrosis Virus (NNV)

Jong-Oh Kim*

Institute of Marine Biotechnology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Received April 5, 2020 / Revised April 21, 2020 / Accepted April 23, 2020

Nervous necrosis virus (NNV) contains a bi-segmented viral genome, RNA1 (3.4 kb, RdRp), and RNA2 (1.4 kb, capsid protein) in a small particle (25 nm). Despite its extremely compact size, NNV has caused serious damage by infecting approximately 120 fish species worldwide since it was first reported in the late 1980s. In order to minimize the damage caused by NNV infection and develop effective vaccines, it is necessary to understand the intracellular signaling system according to NNV infection. NNV infection induces cell cycle arrest at the G1 phase via the p53-dependent pathway to use the cellular system for its replication. Otherwise, host cells recognize NNV infection through the RIG-1-like receptor (RLR) signaling pathway to control the virus and infected cells, and then ISGs required for antiviral action are activated via the IFN signaling pathway. Moreover, apoptosis of infected cells is triggered by the unfolded protein response (UPR) through ER stress and mitochondria-mediated cell death. Cell signaling studies on the NNV infection mechanisms are still at an early stage and many pathways have yet to be identified. Understanding the various disease-specific cellular signaling systems associated with NNV infection is essential for rapid and accurate diagnosis and vaccine development.

Key words : Cell signaling pathway, defense mechanisms, nervous necrosis virus, NNV

서 론

Viral encephalopathy and retinopathy (VER)이라고도 불리는 바이러스성 신경괴사증 viral nervous necrosis (VNN)은 1980년대 말 일본에서 처음 보고된 이후 전 세계적으로 심각한 피해를 일으키고 있는 질병이다[29]. 최근까지의 연구에 따르면 VNN은 barramundi (*Lates calcarifer*), 터봇(*Scophthalmus maximus*) 등 유럽의 주요 양식어종을 비롯하여 줄전갱이 (*Pseudocaranx dentex*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 붉바리 (*Epinephelus akaara*), 자바리(*Epinephelus moara*), 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 등 우리나라 및 아시아 주요 양식어종에서도 발생하고 있으며 약 120여종 이상의 해산어에서 보고되고 있다[8, 11, 29]. VNN은 특히 여름철 고수온기에 종묘생산단계의 자어부터 성어에 이르기까지 폐사를 유발하며, 감염어는 뇌 신경세포의 괴사로 인한 비정상적인 유영이 나타난다[14]. 또한 병리조직학적으로 뇌와 안구 망막의 신경조직에 공포변성이 확인된다[11, 29]. 국내에서는 능성어를 비롯한 여러

양식어류 및 연안에 서식하는 자연산 어류에서 보고되었다 [20].

VNN 질병에 의한 피해를 최소화하고 효율적인 백신들을 개발하기 위해서는 무엇보다 감염원인 신경괴사증바이러스 (nervous necrosis virus, NNV) 감염에 따른 세포내 신호전달 체계를 이해할 필요가 있다. 포유동물의 경우 암을 비롯한 여러 질병과 관련된 바이러스 감염증의 다양한 세포신호전달 체계에 대한 연구들이 진행되었다[16, 27, 28]. 그러나 어류의 경우에는 제브라피쉬 등의 모델 동물을 제외하고는 산업적으로 중요한 양식어류들의 세포신호전달 체계에 대한 연구는 많이 부족한 상황이다. 최근 들어 차세대염기서열 분석기술(NGS) 및 오믹스 분석법의 발달로 바이러스 감염에 따른 어류내 세포신호전달 체계에 대한 통합적인 연구들이 보고되고 있으며 NNV 감염으로 인한 세포신호전달 체계에 대한 연구들도 보고 되기 시작하였다[5, 17, 21, 47]. 이러한 신호전달기전에 대한 연구들은 NNV 감염에 따른 숙주의 생물학적 현상 이해뿐만 아니라 백신의 작용 기전을 이해하고 개발 전략을 수립하는데 크게 기여할 것으로 보인다. 따라서 본 총설에서는 지금까지 보고된 NNV의 세포신호전달과 관련된 내용들을 정리해 보고자 한다.

본 론

NNV의 일반적인 특징

VNN의 원인 병원체인 신경괴사증바이러스(nervous ne-

*Corresponding author

Tel : +82-51-629-5618, Fax : +82-51-629-5618

E-mail : jokim@pknu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

crosis virus, NNV)는 분류학적으로 Nodaviridae (과) Betanodavirus (속)에 속하며 외막이 없는 정이십면체 구조와 25 nm의 크기를 가진다. NNV는 단일 가닥의 (+)sense RNA 두 가닥을 유전물질로 가진다[36]. 두 가닥의 유전물질은 RNA1, RNA2로 불리며 RNA1은 약 3.1 kb의 크기이며 바이러스의 복제에 필요한 RNA 중합효소(RNA dependent RNA polymerase, RdRp)를 암호화 하고 있다. RNA2는 1.4 kb 크기를 가지며 바이러스의 정이십면체 구조를 구성하는데 필요한 단위체인 외피 단백질(capsid protein)을 암호화하고 있다[41]. NNV는 RNA2 서열의 변이 정도에 따라 striped jack nervous necrosis virus (SJNNV), red spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV), barfin flounder nervous necrosis virus (BFNNV) and tiger puffer nervous necrosis virus (TPNNV) 그리고 turbot nervous necrosis virus (TNV) type의 총 5개의 유전자형(genotype)으로 구분된다[19, 31]. 국내 양식산 및 연안 서식 자연산 어류에서 검출되는 NNV는 모두 RGNNV type에 속한다[18, 20].

세포내 바이러스의 감염이 일어난 후에 바이러스는 숙주의 방어 기작을 회피하고 바이러스 입자를 만들어내기 위한 다양한 생존전략을 가동하게 된다[16]. 이와 달리 숙주의 경우는 바이러스 증식을 막기 위해 감염된 세포를 제거하고 바이러스를 제어하기 위한 세포신호전달체계를 가동하게 된다[10, 32]. 지금까지의 연구결과를 보면 어류 세포에 감염된 NNV의 경우 바이러스의 생존을 위해 sub-genomic RNA3를 발현시켜 숙주의 시스템을 교란시키는 기작을 일으킨다. 이와 반대로 숙주의 경우 NNV 제어를 위해 IFN signaling pathway를 통해 항바이러스 단백질들을 만들어내고, RIG-1-like receptor (RLR) signaling pathway를 통해 NNV 감염을 인지한 후 감염된 세포를 제거하기 위해 apoptosis를 유도하는 것으로 알려졌다.

세포 감염 후 NNV의 생존전략

바이러스 입자 내에 RNA1과 RNA2 두 가닥을 유전물질로 갖는 NNV는 세포 내 감염 후 또 다른 형태의 RNA3가 발현되는 것이 보고되었다[3, 37]. RNA3는 RNA1의 3'말단을 주형으로 이용하여 새롭게 생성되지만 NNV 입자가 조립(assembly)되는 단계에서는 입자 내에 포함되지 않는다. 세포 내에서 발현된 RNA3는 polyprotein B1, B2 단백질을 만들어 내는데 초기에 만들어지는 B1 단백질은 숙주 세포의 mitochondrial membrane potential (MMP) 손실을 방지하여 괴사방지효과(anti-necrotic effects)를 나타내면서 세포가 G1/S 세포주기상태에 머무르게끔 유도하는 것으로 보고되었다[6]. 반면에 B2 단백질은 숙주세포의 RNA 간섭(interference) 기작을 저해하면서 ROS 생산을 유도하여 미토콘드리아 연관 세포사멸(mitochondria-mediated cell death)을 유도하는 것으로 나타났다[3, 12, 38-40]. NNV가 세포에 감염된 이후 바이러스 증식

을 위해 세포 주기를 정지(arrest)시키는 기작은 다른 연구결과에서도 보고되었다. Mai 등(2018)은 Orange-spotted grouper 유래의 GS 세포에 NNV가 감염되었을 때 p53 signaling pathway를 활성화시켜 GS 세포의 세포 주기를 G1기에 정지시킨 후 바이러스 복제가 지속되었다고 보고하였다[26]. 이 결과에 따르면 NNV 감염에 의해 p53의 인산화와 세포내 축적이 일어났고 cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21)의 증가와 cyclin E 및 cyclin-dependent kinase 2 (CDK2)의 감소가 일어나 결국엔 감염된 세포가 G1 세포 주기에 머무르는 결과를 보였다(Fig. 1). 감염된 세포가 사멸되지 않고 지속적으로 유지된 상태에서 바이러스는 입자 생성 및 복제에 필요한 기작을 유지하는 것으로 여겨진다.

NNV 감염 후 숙주의 방어 전략

항바이러스 단백질 발현: IFN signaling pathway

인터페론(interferon; IFN)은 항바이러스 및 성장 조절 기능을 가지는 사이토카인으로 특히 바이러스 감염에 대한 1차 방어 기작과 감염세포들에 대한 감시 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다[34]. 인터페론 신호전달체계는 고전적인 JAK-STAT (Janus activated kinase-signal transducer and activator of transcription) 경로, p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase)와 PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) 경로 등 여러 종류의 신호전달 체계가 밝혀져 있다[9, 33, 43]. 어류에서는 NNV를 비롯하여 SGIV (Singapore grouper iridovirus), SVCV (spring viraemia of carp virus), GCRV (grass carp reovirus), VHSV (viral haemorrhagic septicaemia virus), IHNV (infectious haematopoietic necrosis virus) 등 양식어류들의 바이러스 감염에 대한 인터페론 신호전달체계에 대한 연구가 보고되고 있다[15].

바이러스 감염이 일어난 세포에서는 인터페론(type I)을 분비하게 되며 분비된 인터페론이 근접한 세포들의 수용체와 반응하여 TYK2 (tyrosine kinase 2) 및 JAK1 (Janus kinase 1)을 활성화시킨다. 이후 STAT1과 2를 인산화시키고 IRF9 (IFN regulatory factor 9)과의 결합을 통해 ISGF3 (IFN-stimulated gene factor 3)라는 복합체를 구성하게 된다. ISGF3 복합체는 핵 내로 이동하여 유전체내 ISREs (IFN-stimulated response elements)에 결합하고 바이러스 방어 기전에 필요한 여러 종류들의 ISG (IFN-stimulated gene)들의 전사를 시작하게 된다(Fig. 2).

이와 관련하여 NNV에 감염된 Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*)에서 감염 2일 후부터 STAT 유전자들의 발현이 증가되는 것이 확인되었고[42] barramundi brain (BB) 세포에서도 유사한 결과가 확인되었다[46]. 홍미툰게도 IFNd 유전자도 항시적으로 발현되도록 형질 전환된 medaka (*Oryzias latipes*)에서는 STAT1b, STAT2, IRF9의 발현율이 wild type medaka에 비해 낮게 나타났으며 NNV의 감수성이 증가함

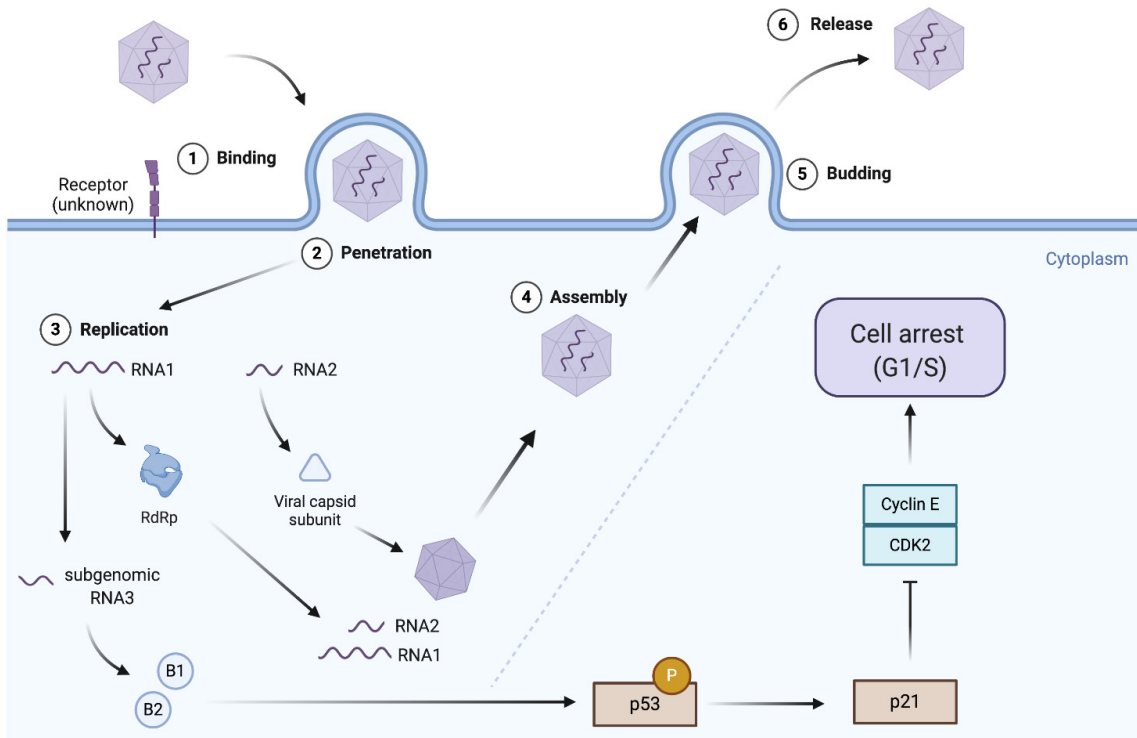


Fig. 1. NNV life cycle and P53 signaling pathway (based on KEGG map04115 pathway).

보고되어 적정 수준의 인터페론 발현이 NNV 감염에도 영향을 미친다는 결과를 확인하였다[25].

바이러스 감염 인지: RIG-1-like receptor (RLR) signaling pathway

NNV에 감염된 세포의 경우 인터페론 신호전달체계를 활성화하기 위해 바이러스 감염을 인지하는 역할이 필요한데

1차적으로 PAMP (pathogen-associated molecular pattern) 또는 PPR (pattern-recognition receptor)을 통하여 인지하게 된다. 지금까지 알려진 PPR의 종류에는 Toll-like receptors (TLRs), retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors (RLRs) 그리고 nucleotide-oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs) 등이 있다[2, 35]. 이들 중 NNV의 경우에는 RIG-1-like receptor (RLR) signaling pathway에 관한 연구들이 많이 보고되어 있다(Fig. 3). RNA virus 인지과 관련된 RLR에는 RIG-1을 포함하여 MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5), LGP2 (laboratory of genetics and physiology 2)가 알려져 있다[24]. 각각의 특징을 살펴보면 RIG-1의 경우 주로 50개 염기 크기의 짧은 이중가닥 RNA (dsRNA)를 인지하는 반면 MDA5는 대체로 긴 크기의 이중가닥 RNA를 인지한다고 알려져 있다[4]. 바이러스의 RNA가 인지된 후에는 RIG-1과 MDA5가 IPS-1으로도 불리는 MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein)와 작용하여 TBK1 (TANK binding kinase 1)을 유도한 다음 CARDs (caspase activation and recruitment domains)을 통해 IRF3, IRF7을 활성화시키고 type I IFN 유전자의 전사를 개시한다[24].

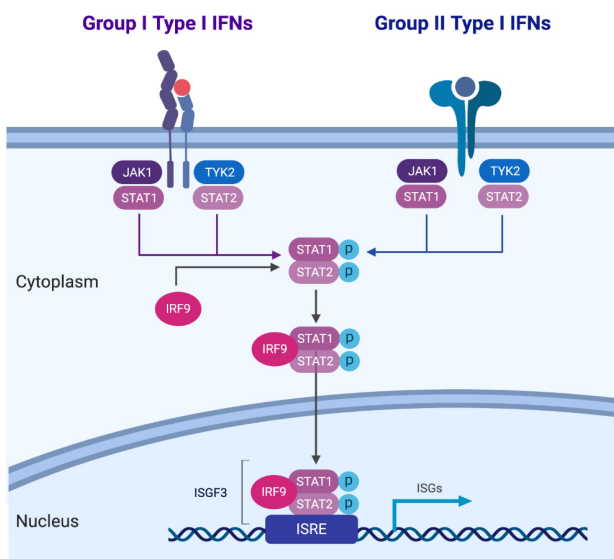


Fig. 2. Signaling and ligand-receptor models for type I IFNs in fish [15].

NNV 감수성이 낮은 gilt-head sea bream (*Sparus aurata*)와 감수성이 높은 European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)을 비교했을 때 NNV에 감염된 gilt-head sea bream의 뇌에서는 MDA5, IRF3, MX (myxovirus resistance protein), PKR (dsRNA-dependent protein kinase receptor)이 높게 발현된

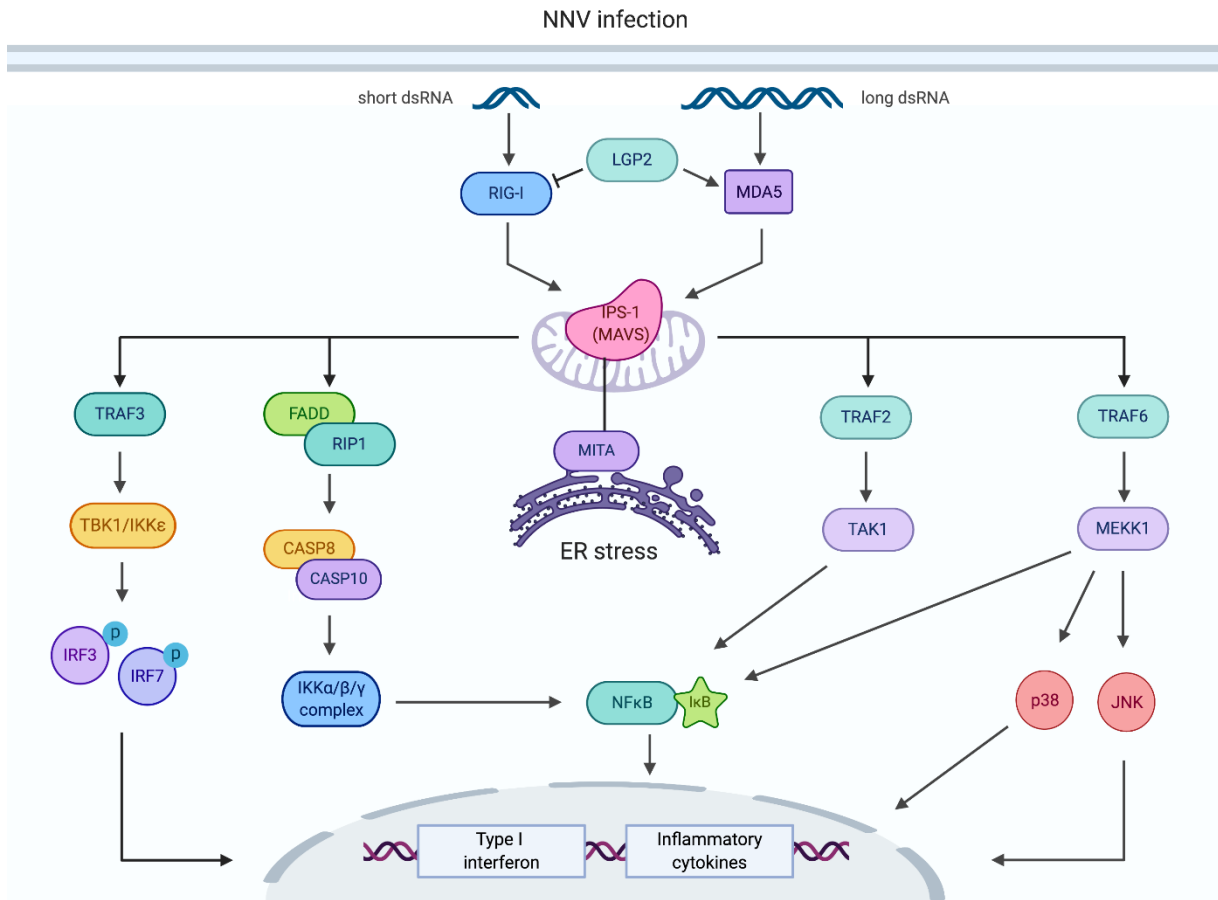


Fig. 3. RIG-1-like receptor signaling pathway (based on KEGG map04622 pathway).

반면 European sea bass에서는 발현량이 전체적으로 낮게 나타나 이들의 NNV 감수성과의 상관관계가 확인되었다[44]. 또한 NNV 감염실험을 통해 Asian seabase (*Lates calcarifer*)의 뇌와 비장에서 MAVS 유전자의 발현량이 높아지는 것을 확인하였고[22], MAVS 유전자를 Asian seabass spleen cell (SISS)에 transfection 시켰을 때 SISS 세포 내에 IRF-3, IFN-1, Mx, ISG15의 전사율이 높아져 어류에서도 고등 척추동물과 동일한 RLR pathway를 통한 항바이러스 기전이 보존되어 있음이 밝혀졌다[23]. NNV에 감염된 능성어 뇌 조직의 전사체 분석을 통해서도 정상 조직에 비해 IRF3, IRF4, Mx 및 IFN-induced protein들이 높은 비율로 발현되는 것이 확인되었다[21].

감염 세포의 사멸: Apoptosis

Apoptosis는 순차적인 신호 전달 과정을 거쳐 해당 세포의 chromatin 절단, apoptotic body 형성 등의 형태학적 특징을 보이며 세포가 사멸하는 현상이다[1]. 감염된 숙주 세포는 내인적(intrinsic) 또는 외인적(extrinsic) 요인으로 apoptosis가 일어나게 되는데 intrinsic apoptosis는 DNA 손상, endoplasmic reticulum (ER) 스트레스, 활성 산소(ROS) 과부하와 같은 변화들에 의해 유발되고 extrinsic apoptosis는 death receptor

에 ligand가 결합하거나 dependence receptor에 결합함으로써 유발된다[13]. Apoptosis는 cytochrome c, Smac/DIABLO, endonuclease G 등 미토콘드리아를 매개로 하는 단백질들의 반응 경로를 통해 조절이 가능한데 이 경로의 주요 조절 인자는 BCL-2 family 단백질이다. BCL-2 family에는 크게 3종류가 포함되는데 Bim, Bid 등의 BH3-only 단백질, BCL-xL (BCL-2), MOMP (mitochondria outermembrane pore)를 형성하는 BAX와 BAK이다. 내인적 요인에 의해 BH3-only 단백질들이 활성화되면 BCL-2를 저해하거나 또는 BAX 및 BAK을 활성화시켜 미토콘드리아 외막에 pore (MOMP)가 형성된다. 이 MOMP를 통해 cytochrome c가 빠져나가면 Apaf-1과 apoptosome을 형성하게 되고 뒤이어 caspase-9, caspase-3 또는 caspase-7이 활성화 되면서 apoptosis가 유도된다(Fig. 4).

NNV 감염에 따른 apoptosis는 grouper의 간 유래 세포주인 GL-av cell에서 MOMP를 통해 활성화되는 것이 확인되었고 ANT (adenine nucleotide translocase) 저해제인 BKA와 Bcl-2 protein family 중 하나인 zfBcl-xL에 의해 apoptosis가 저해되었다[7]. 또한 Wu 등(2010)은 NNV감염으로 apoptosis가 일어나려면 바이러스 유전체의 복제와 뒤이은 sub-genomic RNA에서 만들어진 단백질이 mitochondria-mediated

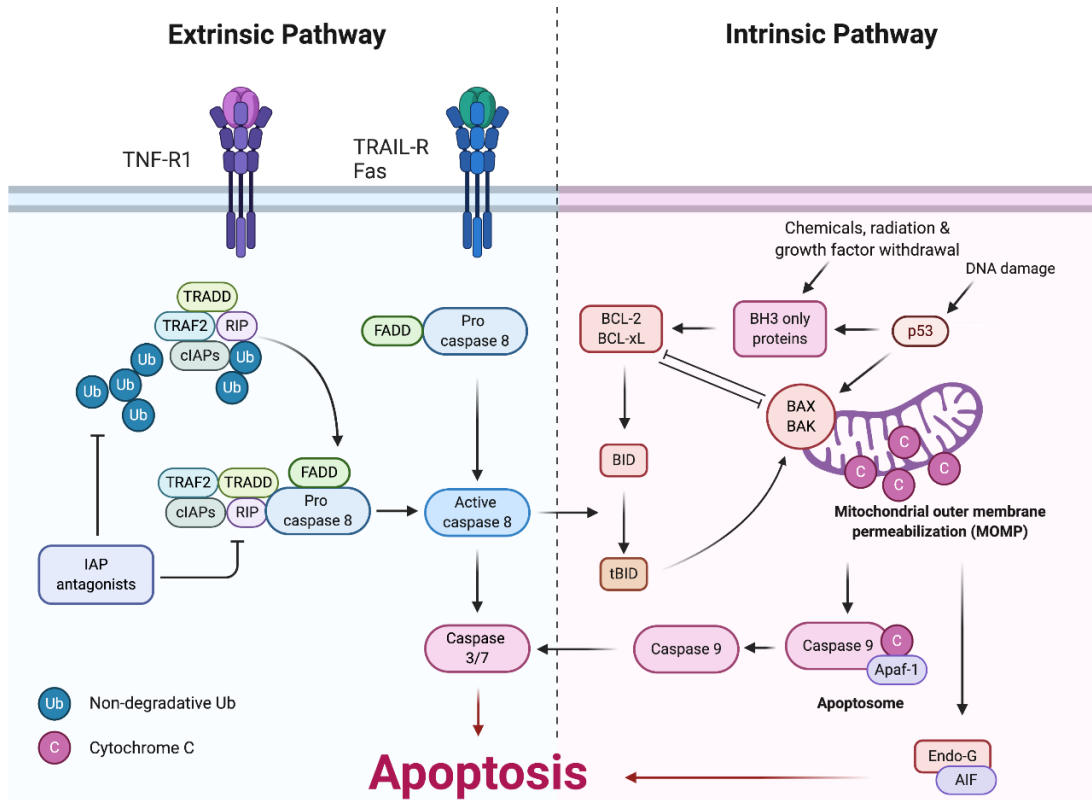


Fig. 4. Apoptosis pathway (based on KEGG map04210).

caspace-3-independent cell death를 유발한다고 설명하였다 [45]. Grouper fin 유래 GF-1 세포에 NNV 감염이 일어난 후 ER stress 반응이 야기되었는데 IRE-1, ATF-6이 증가하고 caspase-12 활성화, PERK 인산화와 Bcl-2 저해 현상이 나타났다 [40]. 특히 이 연구에서는 NNV 감염으로 인해 샤페론 단백질의 일종인 GRP78이 감염 초기에 많이 발현되어 NNV의 RdRp와 반응하여 바이러스의 복제를 도와주고 일정시간 후에는 mitochondria-mediated cell death를 유도하는 것으로 밝혀졌다[40]. NGS 기술이 발달하면서 Chaves-Pozo 등(2019)은 European sea bass 뇌 유래의 DLB-1 세포주를 이용한 전사체 분석을 통해 NNV 감염에 따른 apoptosis와 관련된 연구를 수행하였다. 이 연구에 따르면 NNV 감염 후 Fas, TRAF2, AIP, Bid, Bax, CASP3, CASP6, CASP7, CASP9, CASP10, CytC, DIABLO, Apaf-1의 발현량이 증가하여 apoptosis의 양상이 확인되었다[5].

결론

NNV감염에 의한 VNN의 발병으로 전 세계의 양식 산업에 많은 피해가 발생하고 있다. 지금까지 NNV에 대한 연구들은 발생 현황 파악을 위한 현장 모니터링, 제조합 단백질 및 생백신을 이용한 백신 연구, 감염경로 추적 연구, 숙주 내 면역반응에 대한 연구들이 많이 이루어져 왔다. 최근에는 NGS와 오믹

스를 이용한 빅데이터를 토대로 NNV 감염에 따른 세포신호 전달체계에 대한 연구들이 관심을 받으며 진행되고 있다. 지금까지 살펴본 바와 같이 NNV는 세포내 감염 이후 숙주의 방어 기전을 피해 바이러스 복제에 필요한 요소들을 이용할 수 있게 숙주세포의 cell cycle arrest 등의 기작을 이용하는 것으로 알려졌다 숙주 세포는 NNV와 감염된 세포를 제어하기 위해 RIG-1-like receptor signaling pathway 등을 통해 NNV 감염을 인지한 다음 IFN signaling pathway를 통해 항바이러스 작용에 필요한 ISG들을 발현시킨다. 더불어 감염된 세포들을 사멸시키기 위해 ER stress를 통한 unfolded protein response (UPR)를 이용하거나 mitochondria-mediated cell death 작용을 통해 감염된 세포의 apoptosis를 유발한다. NNV 감염 기작에 대한 세포신호전달연구는 아직 초기단계이며 검증해야할 pathway들이 아직도 많이 남아있는 상황이다. 따라서 NNV 감염과 연관된 다양한 세포신호전달체계를 탐색하고 질병 특이적인 세포신호전달체계를 이해함으로써 신속하고 정확한 진단법 및 백신 개발에 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 한국연구재단의 개인기초연구지원사업의 지원을 받아 수행되었습니다(NRF-2018R1D1A1B07041610 & NRF-2019R1A2C1088600).

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Adams, J. M. and Cory, S. 1998. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* **281**, 1322-1336
- Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* **124**, 783-801.
- Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Tan, Z. and Shariff, M. 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet. Parasitol.* **132**, 249-272.
- Bruns, A. M. and Horvath, C. M. 2014. Antiviral RNA recognition and assembly by RLR family innate immune sensors. *Cytokine Growth F. R.* **25**, 507-512.
- Chaves-Pozo, E., Bandín, I., Oliveira, J. G., Esteve-Codina, A., Gómez-Garrido, J., Dabad, M., Alioto, T., Esteban, M. A. and Cuesta, A. 2019. European sea bass brain DLB-1 cell line is susceptible to nodavirus: A transcriptomic study. *Fish Shellfish Immunol.* **86**, 14-24.
- Chen, L. J., Su, Y. C. and Hong, J. R. 2009. Betanodavirus non-structural protein B1: A novel anti-necrotic death factor that modulates cell death in early replication cycle in fish cells. *Virology* **385**, 444-454.
- Chen, S. P., Yang, H. L., Her, G. M., Lin, H. Y., Jeng, M. F., Wu, J. L. and Hong, J. R. 2006. Betanodavirus induces phosphatidylserine exposure and loss of mitochondrial membrane potential in secondary necrotic cells, both of which are blocked by bongkreic acid. *Virology* **347**, 379-391.
- Costa, J. Z. and Thompson, K. D. 2016. Understanding the interaction between Betanodavirus and its host for the development of prophylactic measures for viral encephalopathy and retinopathy. *Fish Shellfish Immun.* **53**, 35-49.
- Darnell, J. E., Kerr, I. M. and Stark, G. R. 1994. A comprehensive review of the IFN-activated JAK- STAT-signalling pathways. *Science* **264**, 1415-1420.
- Davy, C. and Doorbar, J. 2007. G2/M cell cycle arrest in the life cycle of viruses. *Virology* **368**, 219-226.
- Egusa, S., Wakabayashi, H. and Muroga, K. 2006. Infectious and parasitic diseases of fish and shellfish. Life Science Publishing Co., Seoul, Korea.
- Fenner, B. J., Thiagarajan, R., Chua, H. K. and Kwang, J. 2006a. Betanodavirus B2 is an RNA interference antagonist that facilitates intracellular viral RNA accumulation. *J. Virol.* **80**, 85-94.
- Fuchs, Y. and Steller, H. 2015. Live to die another way: modes of programmed cell death and the signals emanating from dying cells. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **16**, 329-344.
- Fukuda, Y., Nguyen, H. D., Furuhashi, M. and Nakai, T. 1996. Mass mortality of cultured sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, associated with viral nervous necrosis. *Fish Pathol.* **31**, 165-170.
- Gan, Z., Chen, S. N., Huang, B., Zou, J. and Nie, P. 2019. Fish type I and type II interferons: composition, receptor usage, production and function. *Rev. Aquacult.* **49**, 1-32.
- Garcia-Sastre, A. 2017. Ten strategies of interferon evasion by viruses. *Cell Host Microbe.* **22**, 176-184.
- Ge, H., Lin, K., Zhou, C., Lin, Q., Zhang, Z., Wu, J., Zheng, L., Yang, Q., Wu, S., Chen, W. and Wang, Y. 2020. A multi-omic analysis of orange-spotted grouper larvae infected with nervous necrosis virus identifies increased adhesion molecules and collagen synthesis in the persistent state. *Fish Shellfish Immunol.* **98**, 595-604.
- Gomez, D. K., Baeck, G. W., Kim, J. H., Choresca, C. H. Jr. and Park, S. C. 2008. Molecular detection of betanodavirus in wild marine fish populations in South Korea. *J. Vet. Diagn. Invest.* **20**, 38-44.
- Johansen, R., Sommerset, I., Torud, B., Korsnes, K., Hjortaas, M. J., Nilsen, F., Nerland, A. H. and Dannevig, B. H. 2004. Characterization of nodavirus and viral encephalopathy and retinopathy in farmed turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *J. Fish Dis.* **27**, 591-601.
- Kim, C. S., Kim, W. S., Nishizawa, T. and Oh, M. J. 2012. Prevalence of viral nervous necrosis (VNN) in sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* farms. *J. Fish Pathol.* **25**, 111-116.
- Kim, J. O., Kim, J. O., Kim, W. S. and Oh, M. J. 2017. Characterization of the transcriptome and gene expression of brain tissue in sevenband grouper (*Hyporhodus septemfasciatus*) in response to NNV infection. *Genes* **8**, 31-43.
- Krishnan, R., Girish, B. P., Jeena, K., Tripathi, G. and Pani, P. K. 2018. Molecular characterization, ontogeny and expression profiling of mitochondrial antiviral signaling adapter, MAVS from Asian seabass *Lates calcarifer*, Bloch (1790). *Dev. Comp. Immunol.* **79**, 175-185.
- Krishnan, R., Jeena, K., Mushtaq, Z., Shyam, K. U. and Kurcheti, P. P. 2018. Antiviral activity of transiently expressed mitochondrial antiviral signaling adapter, MAVS orthologue from Asian seabass. *Fish Shellfish Immunol.* **76**, 183-186.
- Loo, Y. M. and Gale, M. Jr. 2011. Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity* **34**, 680-692.
- Maekawa, S., Aoki, T. and Wang, H. C. 2017. Constitutive overexpressed type I interferon induced downregulation of antiviral activity in medaka fish (*Oryzias latipes*). *Dev. Comp. Immunol.* **68**, 12-20.
- Mai, W., Liu, H., Chen, H., Zhou, Y. and Chen, Y. 2018. RGNNV-induced cell cycle arrest at G1/S phase enhanced viral replication via p53-dependent pathway in GS cells. *Virus Res.* **256**, 142-152.
- Michael, P., Brabant, D., Bleiblo, F., Ramana, C. V., Rutherford, M., Khurana, S., Tai, T. C., Kurmar, A. and Kumar, A. 2013. Influenza A induced cellular signal transduction pathways. *J. Thorac. Dis.* **5**, S132-141.
- Moore, C. B. and Ting, J. Y. 2008. Regulation of mitochondrial antiviral signaling pathways. *Immunity* **28**, 735-739.
- Munday, B. L. and Nakai, T. 1997. Special topic review: nodaviruses as pathogens in larval and juvenile marine finfish.

- World J. Microb. Biot.* **13**, 375-381.
30. Munday, B. L., Kwang, J. and Moody, N. 2002. Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *J. Fish Dis.* **25**, 127-142.
 31. Nishizawa, T., Mori, K. I., Furuhashi, M., Nakai, T., Furusawa, I. and Muroga, K. 1995. Five fish nodaviruses, the causative agents of viral nervous necrosis in marine fish. *J. Gen. Virol.* **76**, 1563-1569.
 32. Paladino, P., Marcon, E., Greenblatt, J. and Frappier, L. 2014. Identification of herpesvirus proteins that contribute to G1/S arrest. *J. Virol.* **88**, 4480-4492.
 33. Plataniias, L. C. 2003. The p38 mitogen-activated protein kinase. *Pharmacol. Ther.* **98**, 129-142.
 34. Plataniias, L. C. 2005. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 375-386.
 35. Ranjan, P., Bowzard, J. B., Schwerzmann, J. W., Jeisy-Scott, V., Fujita, T. and Sambhara, S. 2009. Cytoplasmic nucleic acid sensors in antiviral immunity. *Trends Mol. Med.* **15**, 359-368.
 36. Schneemann, A., Ball, L. A., Delsert, C., Johnson, J. E. and Nishizawa, T. 2005. Family Nodaviridae. Virus taxonomy: Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U and Ball LA, eds. Elsevier/Academic Press, London, United Kingdom. Fauquet 869-872.
 37. Sommerset, I. and Nerland, A. H. 2004. Complete sequence of RNA1 and subgenomic RNA3 of Atlantic halibut nodavirus (AHNV). *Dis. Aquat. Organ.* **58**, 117-125.
 38. Su, Y. C., Chiu, H. W., Hung, J. C. and Hong, J. R. 2014. Beta-nodavirus B2 protein induces hydrogen peroxide production, leading to Drp1-recruited mitochondrial fragmentation and cell death via mitochondrial targeting. *Apoptosis* **19**, 1457-1470.
 39. Su, Y. C., Wu, J. L. and Hong, J. R. 2009. Betanodavirus non-structural protein B2: A novel necrotic death factor that induces mitochondria-mediated cell death in fish cells. *Virology* **385**, 143-154.
 40. Su, Y. C., Wu, J. L. and Hong, J. R. 2011. Betanodavirus up-regulates chaperone GRP78 via ER stress: roles of GRP78 in viral replication and host mitochondria-mediated cell death. *Apoptosis* **16**, 272-287.
 41. Tan, C., Huang, B., Chang, S. F., Ngoh, G. H., Munday, B., Chen, S. C. and Kwang, J. 2001. Determination of the complete nucleotide sequences of RNA1 and RNA2 from greasy grouper (*Epinephelus tauvina*) nervous necrosis virus, Singapore strain. *J. Gen. Virol.* **82**, 647-653.
 42. Tso, C. H., Hung, Y. F., Tan, S. P. and Lu, M. W. 2013. Identification of the STAT1 gene and the characterisation of its immune response to immunostimulants, including nervous necrosis virus (NNV) infection, in Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Fish Shellfish Immunol.* **35**, 1339-1348.
 43. Uddin, S., Yenush, L., Sun, X. J., Sweet, M. E., White, M. F. and Plataniias, L. C. 1995. Interferon- α engages the insulin receptor substrate-1 to associate with the phosphatidylinositol 3'-kinase. *J. Biol. Chem.* **270**, 15938-159341.
 44. Valero, Y., Morcillo, P., Meseguer, J., Buonocore, F., Esteban, M. A., Chaves-Pozo, E. and Cuesta, A. 2015. Characterization of the IFN pathway in the teleost fish gonad against vertically transmitted viral nervous necrosis virus. *J. Gen. Virol.* **96**, 2176-2187.
 45. Wu, H. C., Wu, J. L., Chu, H. L., Su, Y. C. and Hong, J. R. 2010. RGNNV induces mitochondria-mediated cell death via newly synthesized protein dependent pathway in fish cells. *Fish Shellfish Immunol.* **29**, 451-463.
 46. Wu, Y. C., Lu, Y. F. and Chi, S. C. 2010. Anti-viral mechanism of barramundi Mx against beta-nodavirus involves the inhibition of viral RNA synthesis through the interference of RdRp. *Fish Shellfish Immunol.* **28**, 467-475.
 47. Xiang, Y., Jia, P., Liu, W., Yi, M. and Jia, K. 2019. Comparative transcriptome analysis reveals the role of p53 signalling pathway during red-spotted grouper nervous necrosis virus infection in *Lateolabrax japonicus* brain cells. *J. Fish Dis.* **42**, 585-595.

초록 : 어류신경괴사증바이러스(nervous necrosis virus, NNV) 감염에 따른 숙주의 방어기전관련 세포신호전달

김종오*

(부경대학교 해양생명과학연구소)

신경괴사증바이러스(NNV)는 25 nm의 작은 입자 크기에 RNA1 (3.4 kb, RdRp), RNA2 (1.4 kb, capsid protein) 두 가닥의 RNA를 유전정보를 가진다. NNV는 1980년대 말 처음 보고된 이후 전 세계적으로 120여종의 어류에 감염을 일으키며 심각한 피해를 일으키고 있는 바이러스이다. NNV 감염에 의한 피해를 최소화하고 효율적인 백신들을 개발하기 위해서는 무엇보다 NNV 감염에 따른 세포내 신호전달체계를 이해할 필요가 있다. NNV는 세포내 감염 이후 숙주가 가진 바이러스 복제에 필요한 요소들을 이용할 수 있도록 숙주세포의 cell cycle arrest 등의 기작을 이용하는 것으로 알려졌다. 반면에 숙주 세포는 NNV와 감염된 세포를 제어하기 위해 RIG-1-like receptor signaling pathway 등을 통해 NNV 감염을 인지한 다음 IFN signaling pathway를 통해 항바이러스 작용에 필요한 ISG들을 발현시킨다. 또한 감염된 세포들을 사멸시키기 위해 ER stress를 통한 unfolded protein response (UPR), mitochondria-mediated cell death 작용을 통해 감염된 세포의 apoptosis를 유발한다. NNV 감염 기작에 대한 세포신호전달연구는 아직 초기단계이며 검증해야 할 pathway들이 아직도 많이 남아있는 상황이다. 따라서 NNV 감염과 연관된 다양한 세포신호전달체계를 탐색하고 질병 특이적인 세포신호전달체계를 이해함으로써 신속하고 정확한 진단법 및 백신 개발에 많은 도움이 될 것으로 생각된다.