

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08508

研究課題名(和文) 風疹ウイルスの経胎盤感染メカニズムの解明

研究課題名(英文) Study on a mechanism underlying a transplacental transmission of rubella virus

研究代表者

森 嘉生 (Mori, Yoshio)

国立感染症研究所・ウイルス第三部・室長

研究者番号：40379095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：風疹ウイルスはヒト由来胎盤由来培養細胞株などには比較的よく感染が成立するが、その他のヒト由来細胞への感染効率は非常に低い。多くの付着系細胞ではウイルス侵入は成立するがそれ以降で制限されていること、多くの免疫系細胞はウイルスが侵入できないことが示唆された。風疹ウイルスの細胞表面への吸着因子として細胞のスフィンゴミエリン(SM)とコレステロール(Chol)を同定した。風疹ウイルスのE1タンパク質に存在する融合ループがCaイオン依存的にSM/Cholに富む膜に吸着し、さらに膜融合を誘導することが示唆された。さらに本吸着とは別にタンパク質性の宿主因子への吸着も存在することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Rubella virus (RUBV) is highly infectious to culture cell lines derived from human trophoblasts but not many other human cell lines. In this study, we have found that almost of adhesion cell lines which we have tested are permissive to the RUBV-entry, while almost of suspension immune cell lines are not. Furthermore, we have identified that sphingomyelin (SM) and cholesterol (Chol) on the cell surface are participate in attachment of RUBV to the cell surface. The envelope protein E1 of RUBV attaches to SM/Chol-rich membrane and induces membrane fusion between cell and RUBV via its fusion loop in the presence of a Ca ion. RUBV also attaches a host proteinous molecule(s), which is not yet identified. This attachment is closely related to cell-permissibility of the RUBV-entry.

研究分野：ウイルス学

キーワード：風疹ウイルス ウイルス受容体 スフィンゴミエリン コレステロール

1. 研究開始当初の背景

風疹ウイルスの胎内感染は、母体で増殖したウイルスが血液を介して胎盤に感染した後、臍帯静脈を通じて胎児へ伝播することで成立すると考えられている。妊娠8週までの早期において約90%と高効率で経胎盤感染が起きるとされることから、胎盤には風疹ウイルスに非常に感受性の高い細胞が存在することが強く示唆される。しかしながら、この胎児への「入り口」となる細胞の正体は未だ明らかになっておらず、細胞レベルでの感染経路については不明のままである。我々はこれまでに数種のヒト栄養膜細胞腫瘍（絨毛上皮癌）由来の培養細胞は、風疹ウイルスに対して非常に感受性が高いことを明らかにしてきた。このことは、絨毛上皮癌由来培養細胞が風疹ウイルスの胎児への「入り口」となる細胞としての性質を反映しているものと考えられる。レセプターはウイルス感受性を決定する最も重要な因子の一つである。上記の絨毛上皮癌細胞には、風疹ウイルスレセプターが豊富に発現していると考えられる。近年、中枢神経系神経細胞で発現している Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) が風疹ウイルスレセプターの一つとして同定されたが、絨毛上皮癌細胞には MOG が発現しておらず、未知のレセプターが存在することが示唆される。以上のことから、風疹ウイルスの経胎盤感染メカニズムの解明には、新規ウイルスレセプターの同定が非常に有用であり、我々の見いだした絨毛上皮癌由来培養細胞を材料に用いることがその糸口になると考えられる。

2. 研究の目的

本研究課題では、絨毛上皮癌細胞を材料に新規風疹ウイルスレセプターの同定を目指す。同定されたレセプター分子の組織学上の分布から風疹ウイルスの胎盤感染経路を

含めた体内動態の解明を目指す。さらに既知レセプターMOGと新規レセプターの風疹ウイルスエンベロープ蛋白質上の結合部位の解析ならびに新規レセプターの動物種間の機能比較など、基盤的な情報の収集を行う。

3. 研究の方法

絨毛上皮癌由来培養細胞が風疹ウイルスに対して他のヒト由来培養細胞と比して感受性が高い理由を、風疹ウイルスの侵入とそれ以降のステップに分けて検討した。様々な細胞株を用いて、風疹ウイルスの侵入を許容する細胞としない細胞の分類を行った。風疹ウイルスの赤血球への吸着に關与する宿主因子の同定を行い、この因子のウイルスの細胞内侵入への關与を検討した。

4. 研究成果

風疹ウイルスはヒト由来胎盤由来培養細胞株などには比較的良好に感染が成立するが、その他のヒト由来細胞への感染効率は非常に低い。風疹ウイルスエンベロープタンパク質を被った VSV シュードタイプウイルスを作製し、上記培養細胞の侵入段階の許容性を検討したところ、接着系の細胞のほとんどは侵入を許容することが判明したことから、感染レセプターは多くの細胞で発現していることが示唆された。風疹ウイルスの細胞表面への吸着因子として細胞のスフィンゴミエリン(SM)とコレステロール(Chol)を同定した。風疹ウイルスのE1タンパク質に存在する融合ループがCa²⁺イオン依存的にSM/Cholに富む膜に吸着し、さらに膜融合を誘導することが示唆された。さらに本吸着とは別にタンパク質性の宿主因子への吸着も存在することが示唆された。SM/Cholへの吸着はウイルスの侵入が成立しない細胞でも認められるが、タンパク質性因子への吸着はウイルス侵入が成立す

る細胞に認められ、成立しない細胞では認められないことから、この宿主因子が風疹ウイルスへの感受性に関与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

1. Both sphingomyelin and cholesterol in the host cell membrane are essential for Rubella virus entry. Otsuki N, Sakata M, Saito K, Okamoto K, Mori Y, Hanada K, and Takeda M. (2018) *J Virol*, 92 (1), e01130-17.
2. Analysis of VSV pseudotype virus infection mediated by rubella virus envelope proteins. Sakata M, Tani H, Anraku M, Kataoka M, Nagata N, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, and Mori Y. (2017) *Sci Rep* 14; 7(1): 11607.
3. Molecular Epidemiology of Rubella Virus Strains Detected Around the Time of the 2012-2013 Epidemic in Japan. Mori Y, Miyoshi M, Kikuchi M, Sekine M, Umezawa M, Saikusa M, Matsushima Y, Itamochi M, Yasui Y, Kanbayashi D, Miyoshi T, Akiyoshi K, Tatsumi C, Zaito S, Kadoguchi M, Otsuki N, Okamoto K, Sakata M, Komase K, Takeda M. (2017) *Front. Microbiol.* 8.

[学会発表](計6件)

1. Sphingomyelin of host cell plays an important role in the rubella virus infection 大槻紀之、坂田真史、花田賢太郎、岡本貴世子、安楽正輝、竹田誠、森嘉生 第63回日本ウイルス学会学術集会、2015
2. Analysis of pseudotyped VSV bearing rubella virus envelope proteins 坂田真史、谷秀樹、岡本貴世子、大槻紀之、安楽正輝、永井美智、竹田誠、森嘉生 第63回日本ウ

イルス学会学術集会、2015

3. Pseudotype VSV infection mediated by the rubella virus glycoprotein is restricted at the entry step in lymphoid cells 坂田真史、谷秀樹、大槻紀之、岡本貴世子、安楽正輝、竹田誠、森嘉生 第64回日本ウイルス学会学術集会、2016
4. Identification of a small-molecule chemical compound inhibitor for hemagglutination and infection of rubella virus 安楽正輝、松永智子、坂田真史、宮川敬、工藤あゆみ、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生、梁明秀、第64回日本ウイルス学会学術集会、2016
5. Heat shock protein 90 (HSP90)は風疹ウイルスの複製に関与する。坂田真史、加藤大志、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生、第65回日本ウイルス学会学術集会、2017
6. 風疹ウイルスは異なる2種類の方法で細胞へ吸着する。森嘉生、大槻紀之、坂田真史、岡本貴世子、竹田誠、第65回日本ウイルス学会学術集会、2017

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 嘉生 (MORI Yoshio)

国立感染症研究所・ウイルス第三部・室長

研究者番号：40379095

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()