

令和元年6月21日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19620

研究課題名(和文)トガウイルスのゲノム複製機構の解明と抗ウイルス薬開発の基盤的研究

研究課題名(英文)Elucidation of togavirus genome replication mechanism and basic research for antiviral drug development

研究代表者

坂田 真史 (Sakata, Masafumi)

国立感染症研究所・ウイルス第三部・主任研究官

研究者番号：20600547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：トガウイルスのゲノム複製には様々な宿主因子が関与していることが示唆されているが、その多くは不明である。本研究では、細胞の分子シャペロンタンパク質であるheat shock protein 90 (Hsp90)がトガウイルスの効率的なゲノム複製に必要であることを明らかにした。さらに、Hsp90がゲノム複製を担う非構造タンパク質と相互作用して、それらタンパク質の安定的な発現に寄与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トガウイルスにはヒトに強い病原性を示すウイルスが多く分類されているが、それらウイルス感染症におけるワクチンや特異的治療方法は殆ど確立されていない。ウイルス感染症の制圧には病原性を理解する必要があり、その為にはゲノム複製機構を解明することは極めて重要である。本研究の成果は、トガウイルスのゲノム複製に關与する重要な宿主因子としてHsp90を同定し、その役割を明らかにした。また、Hsp90阻害剤がウイルス産生を優位に低下させることを示した。これらの知見は病原性の理解を深めること、抗トガウイルス薬の開発基盤に繋がることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Togavirus is expected to use numerous host factors in their genome replication. However, host factors involved in their genome replication are largely unknown. In this study, we demonstrated that heat shock protein 90 (Hsp90), a molecular chaperone, is needed for efficient genome replication of togavirus. Further we revealed that Hsp90 interacts with viral non-structural proteins, Hsp90 contributes the stability of these proteins.

研究分野：ウイルス学

キーワード：トガウイルス 風疹ウイルス ゲノム複製 宿主因子 Hsp90 抗ウイルス薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

トガウイルス科はルビウイルス属とアルファウイルス属で構成されており、ヒトに強い病原性を示す多くのウイルスが分類されている。代表的なウイルスとして、ルビウイルス属の風疹ウイルス、アルファウイルス属のシンドビスウイルス、チクングニアウイルスやベネズエラウマ脳炎ウイルス等がある。これらのウイルスは宿主細胞の形質膜を再構築して形成する小胞内(ゲノム複製小胞)でゲノム複製を行う共通した複製様式を持つ。小胞の形成を含むゲノム複製過程には多数の宿主因子が関与していることが予想されるが、トガウイルス科に共通した宿主因子の同定は未だ報告がなく、ゲノム複製機構の多くも不明である。大部分のトガウイルス感染症にはワクチンや特異的治療法がない。それらの開発には病原性を理解する必要があり、そのためにはゲノム複製機構を解明することは極めて重要である。

2. 研究の目的

トガウイルスのゲノム複製機構の解明、それを介して抗ウイルス薬開発の基盤を得るためにトガウイルスのゲノム複製に関与する宿主因子の探索を行い、細胞の分子シャペロンタンパク質である Heat shock protein 90 (Hsp90) を候補として見出した。本研究では、トガウイルスのゲノム複製における Hsp90 の役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト siRNA ライブラリーを用いて、風疹ウイルスのゲノム複製に関与する宿主因子候補として Hsp90 を選出した。Hsp90 の阻害剤 (17-AAG) を用いて、風疹ウイルス (RUBV) とシンドビスウイルス (SINV) のウイルス増殖とゲノム複製における Hsp90 活性の影響を検討した。2種のウイルスについて、Hsp90 と相互作用するウイルスタンパク質を共免疫沈降法により検討した。相互作用したウイルスタンパク質の安定性と機能性に関する Hsp90 活性の役割をパルス-チェイス法により解析した。

4. 研究成果

1) Hsp90 活性はトガウイルスの産生ならびにゲノム複製に重要

17-AAG を用いて、RUBV と SINV の増殖における影響を検討した。図 1 に示すように 17-AAG の濃度依存的にウイルス産生が優位に抑制され、ウイルス産生に Hsp90 活性が重要であることが示された。図 2 に示すように 17-AAG でウイルス感染細胞を処理すると細胞内のゲノム量が低下し、Hsp90 の活性がゲノム複製にも重要であることが示された。

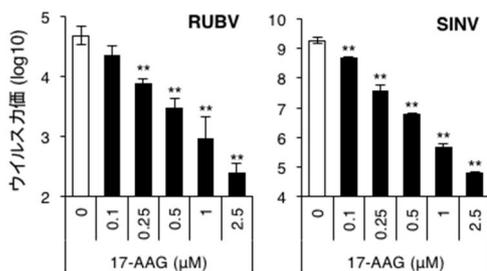


図1 Hsp90活性阻害によるウイルス産生の抑制効果

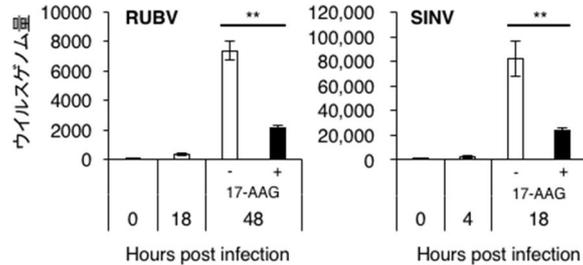


図2 Hsp90活性阻害によるゲノム複製の抑制効果

2) Hsp90 活性はゲノム複製を担うウイルスタンパク質の安定性に関与する

RUBV と SINV について、それぞれゲノム複製を担う非構造タンパク質 (RUBV:p150, p90, SINV:nsP1, 2, 3, 4) と Hsp90 の相互作用を検討した。図 3 に示すように RUBV の p150、SINV の nsP4 と Hsp90 の相互作用が認められた。さらに、パルス-チェイス法により p150 と nsP4 の安定性への影響を検討し、Hsp90 活性が p150 と nsP4 の安定性に寄与することが示された (図 4)。

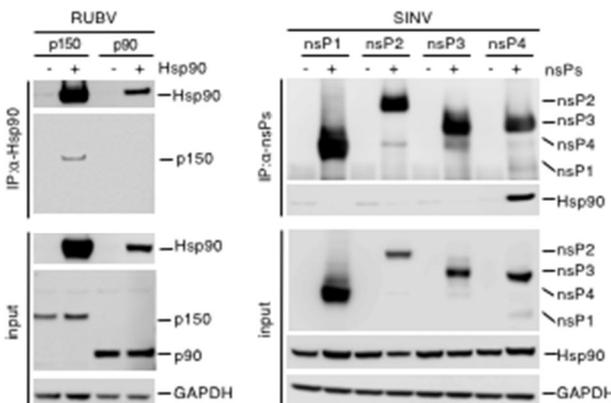


図3 ウルスタンパク質とHsp90の相互作用

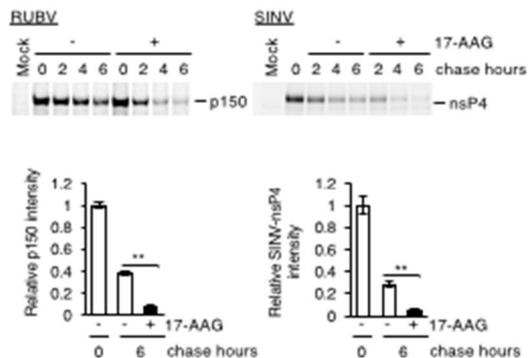


図4 Hsp90活性阻害によるウルスタンパク質の安定性低下

3)Hsp90 活性はRUBV の非構造タンパク質の開裂に重要

RUBV の非構造タンパク質はポリプロテイン (p200) として翻訳された後、p150 のプロテアーゼドメインによって p150 と p90 へ開裂する。Hsp90 活性が p200 の開裂へ影響するかパルスラベルにより検討した。図 5 に示すように、17-AAG の濃度依存的に p200 のシグナルが増加し、それに伴って p150 のシグナルが減少しており、Hsp90 活性が RUBV の p200 の開裂に関与することが示された。

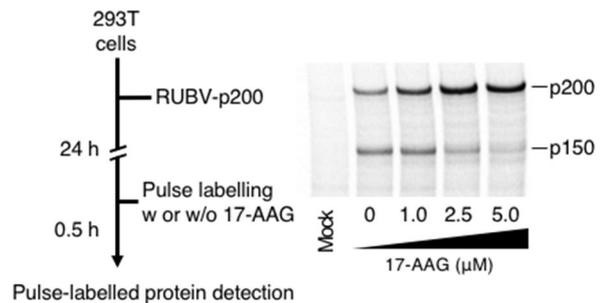


図5 Hsp90活性阻害によるp200開裂の減少

以上の結果より、Hsp90 がトガウイルスのゲノム複製を担う非構造タンパク質の安定性に寄与して、トガウイルスのゲノム複製に関与することを明らかにした。Hsp90 はガン治療の標的分子として注目されており、治療薬候補として様々な活性阻害剤が報告されている。Hsp90 活性阻害剤がトガウイルス感染症の治療薬として利用出来る可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Sakata M, Katoh H, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y. Heat shock protein 90 is required for efficient replication of rubella virus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。