

機関番号：35303

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20590479

研究課題名 (和文) インフルエンザウイルスの運動・情報処理機構

研究課題名 (英文) Motility and intelligence of influenza virus

研究代表者

堺 立也 (SAKAI TATSUYA)

川崎医科大学・医学部・助教

研究者番号：00309543

研究成果の概要 (和文)：インフルエンザウイルスはヘマグルチニンと細胞表面のシアロ糖鎖との結合のペアを入れ替えることで細胞表面を二次元的に運動する能力を持つことが明らかになった。さらにトリウイルスにおいては、ノイラミニダーゼによりシアロ糖鎖を破壊することで後戻りしないというあたかも記憶をもつ(情報処理能力がある)かのような運動をおこなうことが明らかになった。ウイルスの運動様式や情報処理の能力は、ヘマグルチニンのシアロ糖鎖との結合力とノイラミニダーゼの酵素活性のバランスにより調整されていることが明らかになった。

研究成果の概要 (英文)：In this research, I demonstrated that Influenza virus has motility and intelligence. Influenza virus moves on a cell surface by exchanging bindings between hemagglutinin and sialoglycan. Avian influenza virus tends not to move backward as an intelligent particle, since viral neuraminidase destroys sialoglycans along a track which the virus particle has moved before. I also demonstrated that virus motion pattern and intelligent level are modified by affinity of hemagglutinin to sialoglycan and enzymatic activity of neuraminidase.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：感染防御・ワクチン

## 1. 研究開始当初の背景

(1)これまで、ウイルスには運動や情報処理をおこなう能力はないと考えられてきた。しかし研究代表者の以前の研究により、インフルエンザウイルスが細胞表面を運動することが観察されていた。この運動が、ウイルス自身が能動的におこなっているものであれば全く新しい知見である。しかし、細胞(膜)の運動やウイルス受容体分子(シアロ糖蛋白質

あるいは脂質)の細胞膜中での並進拡散などによる受動的なものである可能性も考えられた。

(2)インフルエンザウイルスの表面には、二種類の蛋白質、ヘマグルチニンとノイラミニダーゼが存在する。ヘマグルチニンは細胞表面のシアロ糖鎖との結合能を持ち、ノイラミニダーゼはシアロ糖分解酵素である。研究代表者は、「ウイルスは、ヘマグルチニンとシア

ロ糖鎖との結合のペアを入れ替えることで、細胞表面を運動する」また「ウイルスは、運動と同時にノイラミニダーゼがシアロ糖鎖を分解することで、はじめにいた場所から積極的に離れるというあたかも記憶(情報処理能力)をもつように運動する」という二つの仮説を立てた。

(3)インフルエンザウイルスのヘマグルチニンやノイラミニダーゼは、ウイルス固有の蛋白質であり、真核生物や原核生物には存在しない。そこでウイルスの運動や情報処理は、もし存在すれば従来知られているものとは全く異なるメカニズムによるものとなる。ウイルス運動・情報処理能力の証明は、生物界に存在する新しい運動・情報処理機構の発見であり、そのメカニズムの解明は、未知のエネルギー変換や情報処理の機構を明らかにするものとしてその生物学的意義は大きい。

## 2. 研究の目的

本研究は、インフルエンザウイルスが運動と情報処理能力を持つことを証明し、さらに運動と情報処理の分子機構や動作原理を明らかにすることを目的としている。インフルエンザウイルス表面の二種類の蛋白質、ヘマグルチニンとノイラミニダーゼがウイルスの運動と情報処理にどのように関わっているか、そのメカニズムを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1)ウイルス運動の解析. インフルエンザウイルスの細胞表面で運動が、細胞運動などに伴う受動的なものではなく、ヘマグルチニンとシアロ糖鎖の結合が入れ替わることでおきていることを証明するため、人工的にシアロ糖蛋白質を結合させたガラス表面(人工細胞表面)を作製し、この表面でのウイルス運動を観察した。精製したインフルエンザウイルスを蛍光標識し、人工細胞表面にのせ、表面での個々のウイルス粒子の挙動を全反射蛍光顕微鏡を用い観察した。得られたウイルス運動の軌跡から運動のパターンの解析をおこなった。

(2)ウイルス情報処理の解析. ウイルス運動がランダムな運動とどの程度異なるかを指標にすることでウイルスの情報処理能力を定量した。(1)で得られたウイルスの軌跡から求めたウイルス粒子の座標を、シミュレーションにより計算したランダム運動する仮想ウイルス粒子の座標と比較することで、ウイルスが、情報処理能力を持つかどうか(はじめにいた位置から遠ざかる傾向を持つかどうか)を判定した。さらにランダム運動からの分離度を指標にした情報処理能力の定量をおこなった。

(3)ヘマグルチニン機能の解析. ヘマグルチニンとシアロ糖鎖の結合力を解析した。ヘマグ

ルチニンに結合する蛍光プローブとして、蛍光標識した合成シアロ糖蛋白質(血清アルブミンにシアロ糖鎖を化学結合したもの)を作製した。このプローブをウイルスとの結合量をレーザー蛍光顕微鏡下で定量することで、ヘマグルチニンとシアロ糖鎖との結合力を測定した。

(4)ノイラミニダーゼ機能の解析. ノイラミニダーゼの酵素活性(シアロ糖鎖の加水分解活性)を Kobasa et al. (*J. Virol.* 73:6743-6751, 1991)の方法により測定した。

## 4. 研究成果

(1)細胞表面でのウイルス運動の証明.

人工細胞表面上での個々のウイルス粒子の挙動を追跡した結果、ウイルス粒子が表面上を二次元的に運動することが明らかになった。これにより、ヘマグルチニンとシアロ糖鎖の結合を入れ替えることでウイルスが細胞表面で運動することが可能であることが示された。

さらにノイラミニダーゼの阻害剤が、人工細胞表面でのウイルスの運動を完全に抑制することから、ノイラミニダーゼがヘマグルチニンとシアロ糖鎖の結合の入れ替えを促進することがわかった。またノイラミニダーゼ阻害剤は、実際の細胞表面でのウイルス運動も人工細胞表面の場合と全く同様に抑制した。このことは、細胞表面でのウイルス運動の原因は、主にヘマグルチニンとシアロ糖鎖の結合の入れ替えであり細胞運動などによる受動的なものではないことを示している。

(2)2種のウイルス運動モードの発見(ヒトを宿主とするインフルエンザウイルスの運動パターンと情報処理能力の解析). ヒト由来のH1N1およびH3N2亜型ウイルスについて運動パターンと情報処理能力の解析をおこなった。その結果、どちらの亜型のヒトウイルスも、人工細胞表面で同様の運動パターンを示した。運動の解析から2種類の運動モードが存在することがわかった。一つは、 $0.3\mu\text{m}$ (分解能)以下のステップで動く漸進的な運動モードで、もうひとつは $1\mu\text{m}$ 前後のステップで動く跳躍的な運動モードである。これ以降、漸進的運動モードをローリング、跳躍的運動モードをスライディングと呼ぶ。

次にウイルス情報処理能力の判定のため、ウイルス運動の軌跡の解析を行ったところ、ランダムな運動の軌跡と特徴が一致した。これはヒトウイルスには情報処理能力がないことを示している。

(3)ウイルスの情報処理能力の証明(ミズドリを宿主とするインフルエンザウイルスの運動パターンと情報処理能力の解析). ミズドリ由来のH1N1, H3N2, H5N3亜型ウイルスについて運動パターンと情報処理能力の解析をおこなった。その結果、いずれの亜型のトリ

ウイルスも、人工細胞表面で同様の運動パターンを示し、主にローリングで動く(ほとんどスライディングしない)ことがわかった。次に軌跡の解析をおこなったところ、トリウウイルスの軌跡はランダム運動に比べ積極的にもとにいた位置から離れる傾向があることがわかった。このことは、トリウウイルスが情報処理能を持つことを示す。

トリウウイルスは情報処理能力を持つのにに対しヒトウイルスは情報処理能力を持たない。トリウウイルスは主にローリング運動を行うため、ノイラミニダーゼがシアロ糖鎖を破壊することで自身の周りにつくりだしたシアロ糖鎖の密度の差をヘマグルチニンにより感知することができるのに対し、ヒトウイルスは頻繁にスライディングを行うため、ノイラミニダーゼがつくりだしたシアロ糖鎖の密度情報を感知できないためと考えられる。つまりノイラミニダーゼはウイルス粒子周辺のシアロ糖鎖の密度を減少させることで、ウイルスがそこに存在したという情報を細胞表面に書き込む装置として働き、ヘマグルチニンはシアロ糖鎖と結合することでノイラミニダーゼが書き込んだ情報の読み取り装置として働いており、トリウウイルスではローリング運動により常に情報を読み取りながら運動できるため効率的に以前にいた場所から離れていくことができる。一方、ヒトウイルスではスライディングによりより跳躍的に移動することで、ノイラミニダーゼが書き込んだ情報にヘマグルチニンがアクセス出来ないためランダムな運動を行う(情報処理能力がない)と考えられる。

(4)ウイルス運動・情報処理機構の分子基盤。ウイルス運動や情報処理にはヘマグルチニンとノイラミニダーゼが関わっている。ヘマグルチニンとシアロ糖鎖との結合の強さやノイラミニダーゼの酵素(シアロ糖鎖分解)活性のレベルが運動や情報処理の特徴とどのように結びつくかを調べるため、まずトリおよびヒトウイルスのヘマグルチニンについてシアロ糖鎖との結合力を測定した。その結果、トリウウイルスヘマグルチニンはヒトウイルスヘマグルチニンに比べシアロ糖鎖との結合力が3-4倍強いことがわかった。次にノイラミニダーゼの酵素活性についてトリおよびヒトウイルスで比較を行ったところ、ヘマグルチニンの場合程差は見られないもののトリウウイルスノイラミニダーゼのほうがヒトウイルスノイラミニダーゼに比べ1.5倍ほど活性が高いことがわかった。

トリウウイルスヘマグルチニンがシアロ糖鎖と強い結合を持つことにより、トリウウイルスがヒトウイルスに比べ強固に細胞表面に結合できると予想される。このことが、トリウウイルスがスライディングという跳躍的な運動をほとんどしない原因であり、ローリング

という情報処理型の運動に有利に働いているのであろう。また、トリウウイルスのノイラミニダーゼ活性がヒトウイルスのそれより若干とはいえ高いことは、情報の書き込み装置として高性能であるといえ、このこともトリウウイルスの情報処理に有利に働いているといえよう。

ところでインフルエンザウイルスはヒトでは呼吸器感染であるが、ミズドリでは消化器(腸管)感染である。トリウウイルスは、腸管のくぼみ(溝)構造である陰窩の底部にある免疫細胞によく感染する。そこでトリウウイルスは、腸管の消化物等に押し流されないよう腸管の上皮細胞表面にしっかりと吸着し、なおかつ効率的に陰窩まで移動するためには、後戻りしない(情報処理型の)運動であるローリングが有利であると考えられる。一方ヒトウイルスは、呼吸器上皮において繊毛運動で追い出される前に繊毛の基部まで潜り込むためには、素早い(跳躍的な)運動であるスライディングが有利になると考えられる。

ヒトインフルエンザウイルスは、ミズドリのウイルスがヒトへの感染性を獲得したものと考えられている。ヒトへの感染性の獲得は、トリインフルエンザウイルスのヘマグルチニンが突然変異によりシアロ糖鎖との結合力を低下させることで、ウイルスが細胞表面でスライディングする能力を獲得し、その結果呼吸器において効率的な感染が可能になることに起因するのではないだろうか。

## 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)

[学会発表] (計7件)

- ① 堺立也. インフルエンザウイルスの情報処理能力. 日本生物物理学会第3回中国四国支部大会, 東広島, 2011年5月14日.
- ② 堺立也. Infectious behavior of novel influenza A virus. 日本生物物理学会第48回年会, 仙台, 2010年9月20日.
- ③ 堺立也. インフルエンザウイルスの感染行動. NLPM コロキウム, 東広島, 2010年6月24日.
- ④ 堺立也. インフルエンザウイルスの行動解析. 日本生物物理学会第2回中国四国支部大会, 松山, 2010年5月8日.
- ⑤ 堺立也. Development of quick imaging technique for analyzing influenza virus behavior. 日本生物物理学会第47回年会, 徳島, 2009年10月31日.
- ⑥ 堺立也. インフルエンザウイルスヘマグルチニン機能の迅速解析技術の開発. 日本生物物理学会第46回年会, 福岡, 2008年12月4日.

- ⑦ 堺立也. インフルエンザウイルスの感染行動. 日本生物物理学会第1回中国四国支部大会, 高知, 2008年5月10日.

[その他]

ホームページ:

<http://www.kawasaki-m.ac.jp/microbiology/DeptMB/Home.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

堺立也 (SAKAI TATSUYA)

川崎医科大学・医学部・助教

研究者番号: 00309543

### (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

伊藤 壽啓 (ITO TOSHIHIRO)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号: 00176348

平林 淳 (HIRABAYAH JUN)

産業技術総合研究所・糖鎖工学センター・

副センター長

研究者番号: 40156691