

平成 21 年 4 月 20 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18073002

研究課題名（和文） プラス鎖 RNA ウイルスおよび二本鎖 RNA ウイルスの複製と病原性

研究課題名（英文） Replication and pathogenesis of plus strand RNA viruses and double strand RNA viruses

研究代表者

野本 明男 (NOMOTO AKIO)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70112670

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：ウイルス、感染症、リバーシジェネティクス、プラス鎖 RNA、二本鎖 RNA

## 1. 研究計画の概要

プラス鎖 RNA ウイルスとして、最も研究が進んでいるポリオウイルス (PV)、我が国で発見され命名されたアイチウイルス (AV)、および、ついに培養細胞での複製系が確立した C 型肝炎ウイルス (HCV) を、また二本鎖 RNA ウイルスとしては、リバーシジェネティクス系が導入されたばかりのロタウイルスを使用し、リバーシジェネティクスを駆使した RNA ゲノムのウイルス複製における構造と機能の解析を行う。さらに改変したゲノムを保有する人工変異ウイルスの個体内での生活環境および病原性発現機構を追求し、プラス鎖 RNA ウイルスおよび二本鎖 RNA ウイルスに関する感染現象の基本に対する理解を深めることを目的とし、研究を行う。

## 2. 研究の進捗状況

ポリオウイルス：PV の一回の感染に対し、神経細胞は抵抗性を示す。この原因の一つは、PV の 2A プロテアーゼに対し神経細胞は抵抗性を持つことである。HA タグを付加した 2A を持つ PV 変異株を作製し、神経細胞に感染させると、2A は感染 11 時間後には核のみに検出されることが判明した。2A の機能は、宿主細胞の翻訳開始因子 eIF4G を切断し、宿主の翻訳を阻害することである。eIF4G は細胞質に存在するので、核に閉じ込められた形の 2A は、細胞変性機能を失うのかも知れない。また、PV を感染モデルマウスの静脈内に接種し、病原性が早く現れるウイルス株を探した。すなわち、血液脳関門 (BBB) を効率よく透過すると思われるウイルス株を

複数株選んだ。ゲノム解析により、どの株もキャプシド蛋白質 VP1 のウイルス粒子表面に当たるペプチドの同一部位に変異を持っていた。その変異のみを持つウイルスを構築した。BBB 透過実験は今後行う予定である。

アイチウイルス：AV の L 蛋白質の欠失変異体を使用した機能解析の結果、L は RNA 複製に関する機能の他に encapsidation にも関与していることが明らかとなった。さらに L は P2P3 蛋白質と同一分子として合成されることが機能発現に重要であることを示した。L と 2A の機能を解析したところ、L はウイルス特異的ポリ蛋白質の細胞内局在を決定していること、2A がゲノムの複製に必須であることを明らかにした。実際 2A は 3CD、3C、3D と結合する。また 2A に変異を導入するとウイルス RNA (とくにプラス鎖) 合成に影響する。

C 型肝炎ウイルス：培養細胞で複製活性のある HCV (ジェノタイプ 2a) JFH-1 と複製活性を検出できない HCV (ジェノタイプ 2b) MA の間でキメラウイルスを作製し、培養細胞で機能できない MA の遺伝子を探した。その結果、MA の少なくとも NS5B と 3' 非翻訳領域が不活性であることを明らかにした。現在進行中の研究である。また HCV 感染細胞内では NS5B の発現により、癌抑制遺伝子産物 Rb のレベルが下がることの機構を解析した。その結果、Rb は、NS5B および宿主のユビキチンリガーゼ E6AP 依存にユビキチン化され、プロテアソームにより分解されることを示した。さらに、感染細胞の TLR3 の転写が上昇することも発見した。この現象は、Rb 減少により、E2F 発現量が増し、これが TLR3 転写の上昇につながったと考えている。

ロタウイルス：リバーシジェネティクスはまだ効率が悪いが、世界に先駆けて挑戦した。すなわち T7 ポリメラーゼ発現ワクシニアウイルスおよびヘルパーウイルス（ヒトロタウイルス）を利用する方法である。まず、人工的に変異を導入したサルロタウイルス VP4（外層蛋白質）のコード遺伝子を有する感染性ロタウイルスを作出した。次にサルロタウイルス SA11 株の中和エピトープ II をヒトロタウイルス DS-1 株の中和エピトープ II に置き換えた抗原モザイクを有する感染性のキメラウイルスを作製し、その性状を明らかにした。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

プラス鎖 RNA ウイルスの研究は、どのウイルスも、リバーシジェネティクスを駆使して、複製と病原性発現の機構を明らかにするべく進展している。ロタウイルスの効率の良いリバーシジェネティクス系、すなわちプラスミド DNA のトランスフェクションのみで感染性ウイルスを得る実験系を確立したいと考えている。

### 4. 今後の研究の推進方策

領域研究の一部であるので、他の研究項目との研究の融和を図り、ウイルスのみではなく、細菌、真菌、寄生虫などの感染現象を含む、病原体横断的な考え方による複製と病原性発現機構の普遍性と多様性を明らかにしていく方針である。

### 5. 代表的な研究成果

（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 9 件)

(1)S. Ohka, M. Sakai, S. Bohnert, H. Igarashi, K. Deinhardt, G. Schiavo, & A. Nomoto. Receptor-dependent and -independent axonal retrograde transport of poliovirus in motor neurons. J. Virol., 査読有, in press

(2)T. Nishimura, M. Saito, T. Takano, A. Nomoto, M. Kohara, & K. Tsukiyama-Kohara. Comparative aspects on the role of polypyrimidine tract-binding protein in internal initiation of hepatitis C virus and poliovirus RNAs. *Comparat Immunol Microbiol Infect Dis.*, 査読有, 31: 435-448, 2008

(3)J. Sasaki, K. Taniguchi et al. Aichi virus 2A protein is involved in viral RNA replication. J Virol., 査読有, 82(19): 9765-9769, 2008

(4)S. Nagashima, K. Taniguchi et al. Interaction between polypeptide 3ABC and the 5'-terminal structural elements of the genome of Aichi virus: implication for negative-strand RNA synthesis. J Virol., 査読有, 82(13):6161-6171, 2008

(5)S. Komoto, K. Taniguchi et al. Generation of recombinant rotavirus with an antigenic mosaic of cross-reactive neutralization epitopes on VP4. J Virol., 査読有, 82(13):6753-6757, 2008

〔学会発表〕(計 26 件)