

令和 2 年 5 月 20 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06145・19K21259

研究課題名（和文）異種ウイルス間の干渉メカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanism of interference between different viruses

研究代表者

白銀 勇太（SHIROGANE, YUTA）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：40756988

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：異種ウイルスが同一の細胞に感染すると協調や干渉など様々なタイプの相互作用がウイルスのライフサイクルの様々なレベルで観察されるが、私たちはその相互作用を研究することで麻疹ウイルスのLタンパク質にはヒトメタニューモウイルスの転写・翻訳を促進する未知の機能があることを見出した。そのことを起点として、私たちはLタンパク質がCAP依存性翻訳をIRES依存性翻訳に対して優位にさせる機能を持つことを見出した。これはウイルス相互作用を解析することで初めて明らかとなったLタンパク質の未知の機能であり、麻疹ウイルスの増殖機構の解明につながる成果である。詳しいメカニズムについては現在さらに検討中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ウイルス学における基礎研究は一般的に一つのウイルスを対象を限定し実施されるが、私たちはあえて異なる種類のウイルスを同一宿主細胞内で相互作用させることでこれまでに観察されたことのないアウトプットを発見し、そのメカニズムを解明することで未知のウイルス増殖機構について明らかにする手法を確立したいと考えた。本研究においては確かに相互作用を観察することでこれまで気づいていなかったウイルスタンパク質の機能が見えてくることを確認した。今後、同手法を用いてウイルスの基礎的理解がさらに深まれば、新たな抗ウイルス薬の開発などにつながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）： Various interactions between different viruses, such as cooperation and interference, are observed at various steps of virus lifecycle. We found that the Large (L) protein of measles virus enhances host CAP-dependent translation, but not IRES-dependent translation. This unknown function of the L protein is unveiled by analyzing interactions between different viruses. The molecular mechanism on this phenomenon is now being investigated.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルス間相互作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

異なるウイルスが同一宿主に感染した際に、相互に影響を与える(相互作用する)現象が知られている。例えばあるウイルスの感染が他のウイルスの感染に抑制的に働く現象は干渉と呼ぶ。その反対に、異なるウイルス同士が協調的に相互作用することもある。

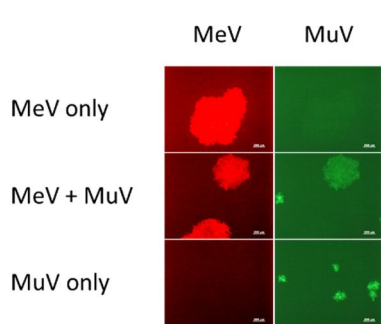
干渉の原因としては自然免疫系の活性化や、ウイルス相互のリソースの奪い合い(競合)などが挙げられ、協調の原因としてはある種のウイルスタンパク質が他の種のウイルスの増殖も促進するような非特異的な作用を保持している可能性などが想定される。

このように、異なるウイルスの相互作用を観察することによって、単独のウイルスを用いた研究では表に現れていなかった現象を見出すことができる。そしてそのメカニズムを解明することでウイルスの未知の増殖機構を明らかにすることが可能だと考えられる。

2. 研究の目的

異なるウイルス同士の相互作用を観察し、干渉などの相互作用を検出する。検出された相互作用について、そのメカニズムを解明することで、これまで気づかれていなかったウイルスの増殖メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法



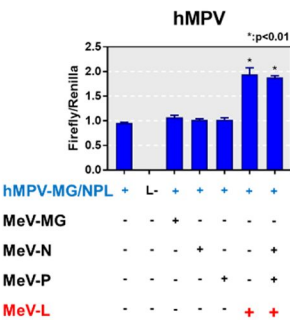
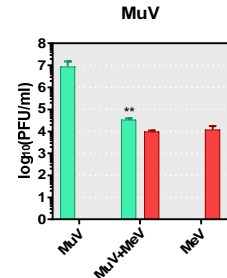
(1)赤色蛍光タンパク質 DsRed を発現する組換え麻疹ウイルス (MeV) と緑色蛍光タンパク質 GFP を発現する組換えムンプスウイルス (MuV) を作製し、ウイルス感染細胞を蛍光顕微鏡下で区別できるようにした(左図)。そのような麻疹ウイルスとムンプスウイルスを HeLa/SLAM 細胞に共感染させ、48 時間後にウイルスを回収してお互いの増殖がどのような影響を受けるか調べた。

(2)麻疹ウイルスとヒトメタニューモウイルスのゲノムの転写・複製を評価するミニゲノム系を作製した。これはウイルスの遺伝子の代わりにルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだ改変ゲノム発現プラスミド(ミニゲノム)とその転写・複製

をサポートするウイルスタンパク質発現プラスミドを細胞に共トランスフェクションし、48 時間後のルシフェラーゼの活性を測定することでウイルスのゲノム転写・複製能を評価する系である。そのミニゲノム系を用いて、両ウイルスゲノムの転写・複製レベルでの相互作用を調べた。

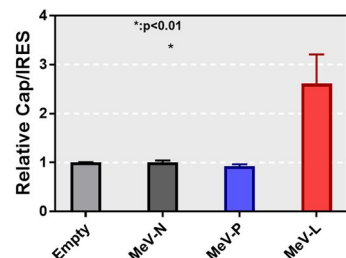
4. 研究成果

(1)MeV と MuV を HeLa/SLAM 細胞に同時に感染させたところ、MuV の増殖のみが著しく抑制された(右図)。ウイルス侵入効率を比較したところ、侵入の効率は共感染により影響を受けないことが確認された。また MeV の感染タイミングを MuV よりも遅らせた実験では MeV による MuV 増殖阻害効果は減弱した。以上の結果により、この阻害効果は侵入より後の比較的早期の段階で起こっていることが確認された。侵入後のゲノム転写・複製ステップにおける両者の相互作用については今後ミニゲノム系を用いて評価し、阻害されているステップを同定し、そのメカニズムの解明につなげたい。



(2)麻疹ウイルスとヒトメタニューモウイルスのミニゲノム系を同一細胞内で評価すると、ヒトメタニューモウイルスの転写・複製が麻疹ウイルスの転写・複製により促進されることが明らかとなった。麻疹ウイルスのミニゲノム系のコンポーネントをそれぞれ別々に発現させたところ、麻疹ウイルスの L タンパク質にメタニューモウイルスの転写・複製促進能があることが明らかになった(左図)。解析を進めたところ、翻訳ステップへの影響が示唆されたため、CAP 依存性に Firefly Luciferase、IRES 依存性に Renilla Luciferase を発現するプラスミドを作製し、L タンパク質の機能を解析した。L タンパク質の発現により CAP 依存性翻訳が IRES 依存性翻訳に対して優位になることが分かった

CMVp Firefly Luc IRES Renilla Luc



(右図)。これは CAP 依存性翻訳によりウイルスタンパク質が合成される麻疹ウイルスにとって合理的である。L タンパク質には RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの本体としての働きの他に、翻訳促進能があることが示唆された。その詳しいメカニズムを調べるため、マイクロアレイ解析を実施した。L 遺伝子の過剰発現により Oxidative stress、p53 pathway、Hippo pathway に関わる遺伝子群の発現が抑制されることを見出した。これらのパスウェイと翻訳についての関係性を現在検討している。また、L タンパク質と相互作用する宿主蛋白質をプロテオミクス解析を用いてスクリーニングし、候補タンパク質と

して AIMP2、OTUB2、RYDEN、IFIT3、DDX5 が挙げられた。これらの宿主タンパク質と L タンパク質の結合が機能的なものであるかは今後の検討課題である。

このように本研究においてはウイルスの相互作用が様々な条件において観察されうること、また観察された相互作用のメカニズムを調べることで、麻疹ウイルスの L タンパク質の翻訳促進能のような未知の機能を知る手掛かりとなり得ることを示した。L タンパク質の機能についての研究を引き続き進めるとともに、ウイルス相互作用を用いてウイルスの増殖機構について更なる解明を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yuta Shirogane, Yusuke Yanagi
2. 発表標題 Combinatorial minigenome assays reveal cooperative effects of RNA-dependent RNA polymerases between different mononegavirus families
3. 学会等名 Japanese society of virology
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----