

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：24405
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2021～2023
課題番号：21K19377
研究課題名（和文）多様なデルタウイルスの伝播機構とその進化の解明

研究課題名（英文）Evolution of deltaviruses

研究代表者

堀江 真行（Masayuki, Horie）

大阪公立大学・大学院獣医学研究科 ・教授

研究者番号：20725981

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：デルタウイルスは自ら粒子を形成できないサテライトウイルスであり、感染伝播には共感染するウイルスのエンベロープタンパク質が必要である。本研究は、動物由来デルタウイルス、特にスズメ目の鳥のデルタウイルス（paDeV）の粒子形成機構を解明することを目指した。解析の結果、paDeVの感染性粒子を放出できる細胞株Xを発見し、遺伝子Yが重要な役割を果たしていることを突き止めた。また、遺伝子Yを他の細胞に導入することで、paDeVの感染性粒子の形成能を獲得することが分かった。これらの成果は、paDeVの粒子形成機構の一端を解明し、デルタウイルスの感染機構の理解に大いに貢献するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デルタウイルスは自ら粒子を形成できない特殊なウイルスであり、感染には共感染するウイルスの特定のタンパク質が必要である。近年、様々な動物からデルタウイルスが発見されているが、その伝播機構は謎に包まれている。本研究は、動物由来デルタウイルス、特にスズメ目の鳥のデルタウイルス（paDeV）の粒子形成機構を解明することを目的とした。解析の結果、paDeVの感染性粒子を形成するための細胞因子を同定することに成功した。これらの成果は、paDeVの粒子形成機構を解明し、デルタウイルスの感染機構の理解に大いに貢献する。また、将来のウイルス感染症の予防や治療法の開発にも有用であらう。

研究成果の概要（英文）：Deltaviruses require the envelope proteins of co-infecting viruses to form infectious particles. This study aimed to elucidate the mechanism of infectious particle formation in animal-derived deltaviruses, particularly those detected in passerine birds (paDeV). We identified a cell line, X, capable of releasing infectious particles of paDeV and identified gene Y as playing a crucial role. Furthermore, we discovered that by introducing gene Y into other cells, they acquired the ability to form paDeV infectious particles. These results provide novel insights into the transmission mechanism of deltaviruses.

研究分野：ウイルス学

キーワード：デルタウイルス コルミオウイルス サテライトウイルス ヘルパーウイルス 感染伝播

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトの D 型肝炎ウイルスに代表されるデルタウイルスは、自身でウイルス粒子を形成できないサテライトウイルスであり、感染伝播には共感染しているヘルパーウイルスのエンベロープタンパク質を必要とする。近年、研究代表者の堀江らの含む様々な研究グループが、多様な脊椎動物から新規のデルタウイルスを発見した。しかし、これらの新規に同定されたデルタウイルスのうち、ヘビのデルタウイルスを除いてヘルパーウイルスは同定されておらず、デルタウイルスの粒子形成機構・感染伝播機構は未解明である。

2. 研究の目的

本研究では、新規に発見された種々の脊椎動物由来デルタウイルスについて、ヘルパーウイルスの同定およびウイルス粒子形成機構を解明することを目的として行った。本研究では特に、自然感染個体が多く観察されているスズメ目の鳥から発見されたデルタウイルス (passerine deltavirus: paDeV) に着目して解析を行った。

3. 研究の方法

本研究では二通りの方法により、ヘルパーウイルス (ヘルパー因子) の探索を行った。

- ① paDeV 自然感染鳥において共感染しているウイルスの探索を行った。
- ② paDeV の人工合成系を用いて、様々な培養細胞をスクリーニングし、ウイルス粒子を形成する培養細胞の同定を試みた。

また、人工合成系を確立していない各種動物由来デルタウイルスについて、人工合成系の確立を試みるとともに、各種培養細胞における感染能を評価した。

4. 研究成果

(1) paDeV 感染組織、感染細胞の同定

まず、paDeV に注目し、その感染鳥の各臓器における免疫組織染色による paDeV 感染細胞の同定と、リアルタイム PCR による paDeV のゲノム量の定量を行った。その結果、皮膚組織において多くの paDeV 陽性細胞が観察されるとともに、同組織からは他の組織と比べ多量のウイルスゲノムが検出された。

これらのことから、ヘルパーウイルス (因子) の探索には皮膚組織が適していると考えられた。

(2) paDeV 感染鳥の皮膚における共感染ウイルスの探索

次に、皮膚組織を用いた mRNA-seq 解析を行い、共感染しているウイルスを網羅的に探索した。その結果、ポリオーマウイルスが唯一の共感染ウイルスとして検出された。

ポリオーマウイルスはエンベロープを持たないウイルスである。そのため、ヘルパーウイルスである可能性は低いと考えられる。しかし、カプシドタンパク質によってデルタウイルスのゲノムがパッケージングされ、ウイルス粒子が形成される可能性も考えられる。そこで、paDeV 感染細胞においてカプシドタンパク質を発現させたものの、粒子形成には至らなかった。

なお、ここで同定したポリオーマウイルスは既知のポリオーマウイルスと 90% 程度の塩基配列一致を示す新規遺伝子型のポリオーマウイルスであった。

(3) 培養細胞におけるスクリーニング実験とヘルパー因子の同定

次に、種々の培養細胞に paDeV を感染させ、培養上清への感染性粒子の放出を検討したところ、特定の細胞株 X でのみ paDeV の感染性粒子の放出が確認された。

この細胞株 X における paDeV 感染性粒子形成機構を調べるため、他の感染性粒子を形成することのできない 2 つの細胞株 (細胞株 A および B) とともに比較トランスクリプトーム解析を行った。その結果、細胞株 X でのみ発現する遺伝子 Y が同定された。この遺伝子 Y を細胞株 A に導入し、paDeV を感染させたところ、細胞株 A においても paDeV の感染性粒子が形成されることが確認された。さらに、paDeV 自然感染鳥の皮膚組織においても遺伝子 Y と相同な遺伝子が発現していることを確認した。これらのことから、遺伝子 Y は paDeV の粒子形成において重要な役割を担っていることが示唆された。

(4) 多様なデルタウイルスの人工合成系の確立

paDeV 以外の 4 種の脊椎動物由来デルタウイルスについても人工合成系を確立した。これらのウイルスについて、種々の培養細胞に感染させ、経時的に感染動態を観察したところ、デルタウイルスによって宿主細胞域が異なることを見出した。さらに、paDeV と同様に、一部のデルタウイルスは特定の細胞株においてのみ、感染が拡大することを見出した。

(5) まとめ

本研究により、デルタウイルスの粒子形成機構に関する新たな知見が得られ、特に paDeV に

おける遺伝子 Y の重要性が明らかになった。これにより、デルタウイルスの感染伝播機構の理解が大きく進展するであろう。他の動物由来デルタウイルスについても同様に伝播機構に関する解析を進めることで、デルタウイルス全般の伝播機構の解明が期待される。

さらに、デルタウイルスによって宿主域が異なることを示す結果を得た。デルタウイルスの宿主域や種特異性、さらにその分子機構については、未だ不明な部分も多く、本研究の成果はデルタウイルスの宿主域とその分子機構の理解の一助となるであろう

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀江真行
2. 発表標題 大規模データベース検索によるウイルス探索とリバースジェネティクスによる解析
3. 学会等名 ウイルス学会北海道支部 第56回夏季シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堀江真行
2. 発表標題 ウイルスメタゲノム解析と実験ウイルス学的解析により見えてきた新たなウイルス伝播機構
3. 学会等名 日本微生物生態学会第36回浜松大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岸本麻衣、川崎純菜、北尾晃一、堀江真行
2. 発表標題 多様な哺乳類および鳥類デルタウイルスからサテライト/ヘルパーウイルスと宿主動物の共進化機構を紐解く
3. 学会等名 NGS EXPO 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岸本麻衣、川崎純菜、北尾晃一、堀江真行
2. 発表標題 多様な哺乳類および鳥類デルタウイルスから紐解くサテライト/ヘルパーウイルスと宿主動物の共進化機構
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩本将士、村上智亮、川崎純菜、北尾晃一、柴田ゆき野、和多和宏、渡士幸一、堀江真行
2. 発表標題 スズメ目デルタウイルスは内在性レトロウイルスのエンベロープタンパク質を利用して感染性粒子を形成する
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩本将士、村上智亮、川崎純菜、北尾晃一、柴田ゆき野、和多和宏、渡士幸一、堀江真行
2. 発表標題 スズメ目デルタウイルスはトリ白血病・肉腫ウイルス様内在性レトロウイルスのエンベロープタンパク質を利用してウイルス粒子を形成する
3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022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
研究分担者	岩本 将士 (Masashi Iwamoto) (40825882)	名古屋大学・理学研究科・学振特別研究員(PD) (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------