

機関番号：82603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22790445

研究課題名(和文)麻疹ウイルスの極性上皮細胞感染機構の解析

研究課題名(英文)Measles virus infection of epithelial cells

研究代表者

田原 舞乃(Tahara, Maino)

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：10572109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 0円

研究成果の概要(和文)：麻疹ウイルスは上皮細胞へ受容体特異的に感染する。受容体に結合するH蛋白質の抗原性の変化を解析した。H蛋白質上には複数の抗原部位があることが分かった。全ての株で保存されている抗原部位はH蛋白質の性質を保持するために重要であることが分かった。このため自然界ではこの部位の抗体からエスケープするウイルスが出現する可能性が低いと考えられた。一方、残りの抗原部位はウイルスの遺伝子型によって大きく変化していた。特に最近の流行株は糖鎖の付加によって特定の抗体から完全にエスケープしていた。よって麻疹ウイルスは、いつまでも単一血清型であり続けるであろうが、多少なりとも抗原性のズレは生じていることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Monoclonal antibodies (MAbs) recognizing distinct epitopes on the H protein were characterized using recombinant MVs. We identified the location of five epitopes on the H protein structure. Our data in the present study demonstrated that the H protein of MV possesses at least two conserved effective neutralizing epitopes. One, which is a previously recognized epitope, is located near the receptor-binding site (RBS), whereas the other epitope is located at the position distant from the RBS. MAb that recognizes this epitope interfered with the hemagglutinin-fusion (H-F) interaction. This epitope was suggested to play a key role for formation of a higher order of an H-F protein oligomeric structure. Our data also identified one nonconserved effective neutralizing epitope. This epitope has been masked by an N-linked sugar modification in some genotype MV strains.

研究分野：ウイルス学

科研費の分科・細目：ウイルス学

キーワード：麻疹ウイルス

1. 研究開始当初の背景

麻疹は、空気感染する代表的なウイルス感染症であり、伝染力において季節性インフルエンザの4～6倍、致死率に関しては100倍以上であり、現在も、世界で年間数十万人の犠牲者が出ている。WHOは、麻疹を最も危険な感染症のひとつと捉え、地球規模での排除に力を注いでいる。麻疹に対する有効な対策は現在のところ生ワクチンによる予防のみである。申請者は最近、麻疹が上皮細胞にレセプター特異的に感染することを証明した。またレセプターに結合するHタンパク質のアミノ酸も決定した。

2. 研究の目的

現在までに分離された全ての麻疹ウイルスは単一血清型で、約半世紀前の株を用いて作製された生ワクチンで誘導される免疫によって世界中の流行株の感染が抑えられている。しかし、レセプターに結合する主要表面抗原であるHタンパク質には多数のアミノ酸変異が蓄積している。麻疹排除計画は、麻疹ウイルスの抗原性に変化が生じないということ为前提としており、麻疹ウイルスの抗原性に変化が生じる可能性についての検討は麻疹排除計画の根幹に関わる重要な研究課題である。本研究ではHタンパク質のアミノ酸変化による抗原性の変化を系統的に解析し、今後の対策について検討した。

3. 研究の方法

麻疹ウイルス遺伝子型D3のIC-B株を元にして作られたルシフェラーゼ発現組換え麻疹ウイルスおよび、H遺伝子を他の遺伝子型の流行株のものに置き換えたウイルスを作製した。抗体はToyoshima株（遺伝子型A）に対して作られたHタンパク質に対するモノクローナル抗体（約20種）を用いた。これらの抗体は競合ELISA法によって、異なるエピトープを認識する5群に分類されている。さまざまな流行株

のH遺伝子をもつ各種組換えウイルスを、各モノクローナル抗体の存在下で免疫系細胞ならびに上皮細胞へ感染させ、ルシフェラーゼ活性を指標に中和反応性について解析した。

4. 研究成果

解析結果から、全ての株に保存されているエピトープとそうでないエピトープが存在することが分かった。保存されているエピトープについての重要な知見は、レセプター結合に直接関与する多くのアミノ酸自身が、ひとつの保存エピトープを構成していること、また、別の保存エピトープは、Hタンパク質二量体同士が相互作用して四量体を形成する接触面、ならびに、Fタンパク質との相互作用に関係する領域の双方に位置すること、である。すなわち、ともに機能的構造的にアミノ酸変化を許容し難い領域が保存エピトープとなっていた。一方、残りのエピトープはウイルスの遺伝子型によって大きく変化していた。特に最近の流行株は糖鎖の付加によって特定の抗体から完全にエスケープしていた。これらの結果から、麻疹ウイルスは、今後も単一血清型でありつづけるであろうが、約半世紀前に分離された現在のワクチン株だけに依存していると、いずれ、ワクチン効果が低下する可能性があると考えられた。麻疹ウイルスHタンパク質は立体構造の解明も進み、レセプターとの複合体構造も明らかになっている。今後、最新科学を生かしたワクチン開発も検討すべきである。

本研究結果は、なぜ、抗原性が変化する病原体と変化しない病原体が存在するのか、という点においても重要な知見をもたらした。麻疹ウイルス研究のみならず、HIV、インフルエンザウイルス、マラリア研究領域において本研究結果の発表論文は引用されている。

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）

〔雑誌論文〕(計3件)

1. Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. The receptor-binding site of the measles virus hemagglutinin protein itself constitutes a conserved neutralizing epitope. *J Virol*. 査読有、87 巻、2013、3583-3586、doi: 10.1128/JVI.03029-12
2. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. *J Virol*. 査読有、87 巻、2013、666-675、doi: 10.1128/JVI.02033-12
3. Takeda M, Tahara M, Nagata N, Seki F Wild-Type Measles Virus is Intrinsically Dual-Tropic. *Front Microbiol*. 査読有、2 巻、2012、doi: 10.3389/fmicb.2011.00279

〔学会発表〕(計12件)

1. Maino Tahara, Katsuhiro Komase, Xue-Min Ma, Ji-Lan He, Yusuke Yanagi, Katsumi Maenaka, Paul A. Rota and Makoto Takeda Antigenic Determinants of Measles Virus Hemagglutinin associated with single serotype. Measles virus mini-symposium 2011年7月15日 ロチェスター(アメリカ)
2. Maino Tahara, Katsuhiro Komase, Yusuke Yanagi, Katsumi Maenaka, Paul A. Rota, Makoto Takeda CONSERVED AND VARIABLE ANTIGENIC SITES ON THE MEASLES VIRUS HEMAGGLUTININ PROTEIN American society for virology 30th annual meeting 2011年7月18日 ミネアポリス(アメリカ)
3. Maino Tahara, Katsuhiro Komase, Xue-Min Ma, Ji-Lan He, Yusuke Yanagi, Katsumi Maenaka, Paul A. Rota, and Makoto Takeda Identification of conserved neutralizing epitopes of the measles virus hemagglutinin protein located in proximity and distal to the

receptor-binding site International Union of Microbiological Societies Congresses 2011年9月13日札幌

4. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹ウイルスの単一血清型の分子機構ならびにワクチン効果減弱の可能性について第15回日本ワクチン学会 2011年12月11日東京
5. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠麻疹ウイルスの単一血清型の分子機構ならびにワクチン効果減弱の可能性について第1回 Negative Strand Virus- JAPAN Symposium 2012年1月21日長崎
6. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M A structural and biochemical basis for the single serotype nature of MV The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, 2012 Sept.11-14
7. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. Virological, Structural and Molecular Bases for the Unchanged Antigenicity of Measles Virus. Osong Symposium on Infectious Disease 2012 Sept.25-26 韓国
8. Takeda M, Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Fukuhara H, Komase K, Yanagi Y, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K. Structural and functional constraints on the measles virus hemagglutinin protein prevent escape from neutralization The 34th Naito Conference 2012 Oct 16-19 札幌
9. 田原舞乃、Melinda A. Brindley、福原秀雄、酒井宏治、大野真治、駒瀬勝啓、Paul A. Rota、Richard K. Plemper、前仲勝実、竹田誠 麻疹ウイルス単一血清型決定の分

子基盤 第60回日本ウイルス学会学術集会
2012年11月大阪

10. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹ウイルスHタンパク質全エピトープの詳細な解析 第16回日本ワクチン学会 2012年12月 横浜
11. 田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、前仲勝実、竹田誠 受容体結合領域を含む複数の主要エピトープを変化させた麻疹ウイルスの解析 第61回日本ウイルス学会学術集会 2013年11月 神戸
12. 竹田誠、田原舞乃、駒瀬勝啓 麻疹ウイルスの抗原性の安定性は強固に保証されている第17回日本ワクチン学会 2013年11月30日三重

〔図書〕(計 2件)

1. 田原舞乃、染谷健司、竹田誠(2010) ウイルスのリバーシジェネティクス. 化学療法の領域 (26) p3-p9
2. 田原舞乃、染谷健司、竹田誠 (2012) 新編ウイルスの今日的意味(編者:柳雄介、堤裕幸). 医薬ジャーナル社 p60-66.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

田原 舞乃(MAINO TAHARA)

国立感染症研究所・ウイルス第3部・主任研究官

研究者番号:研究者番号:10572109

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: