

第三回ウイルス学キャンプ in 湯河原プログラム

7月12日

12:30~13:30 集合、受付

13:30 開会

13:40 Session 1

- ウイルス感染に応答したI型インターフェロン誘導機構
米山光俊（京都大学ウイルス研究所遺伝子動態調節研究部門分子遺伝学研究分野）
- レセプターCD150遺伝子改変マウスを用いた麻疹ウイルス感染の解析
大野真治（九州大学大学院医学研究院ウイルス学）
- 麻疹ウイルスCタンパク質の機能解析
中津祐一郎（九州大学大学院医学研究院ウイルス学）

15:20頃 休憩

15:35頃 Session 2

- HIV-1 インテグラーゼとゲノム動態
増田貴夫（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科免疫治療学分野）
- レトロウイルスの高分子インテグレーション複合体形成における核ラミナ構成タンパク質の役割について
鈴木陽一（京都大学ウイルス研究所附属新興ウイルス感染症研究センター宿主要因解析チーム）
- Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan
中山英美（大阪大学微生物病研究所ウイルス感染制御分野）
- A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene enhances levels of IL-7 expression
宋 海瀚（大阪大学微生物病研究所ウイルス感染制御分野）
- 水疱性口内炎ウイルス（VSV）の糖タンパク質を用いたシュードタイピングに潜む問題点
大石真久（大阪大学微生物病研究所ウイルス感染制御分野）

17:35頃 休憩

17:50頃 Session 3

○ポリオウイルスの体内伝播メカニズム

大岡静衣（東京大学大学院医学研究科）

19:30 夕食

21:30頃 集中討論

7月13日

9:30 Session 4

○インフルエンザウイルスの転写・複製反応と宿主因子の関係

百瀬文隆（北里大学北里生命科学研究科ウイルス感染制御学研究室2）

○インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構

野田岳志（東京大学医科学研究所感染症国際研究センター高病原性感染症研究部門）

○融合細胞を用いたインフルエンザウイルスゲノム集合過程の解明

滝沢直己（筑波大学人間総合科学研究科）

総合討論

12:00前 閉会

招待講演（7月12日）

○ウイルス感染に応答したI型インターフェロン誘導機構

米山 光俊（京都大学ウイルス研究所 遺伝子動態調節研究部門 分子遺伝学研究分野）

我々はI型インターフェロン遺伝子発現機構の解析を通して、ウイルス感染に対する自然免疫誘導のメカニズムを明らかにしたいと考えて研究を続けています。本講演では、これまでの転写調節とシグナル伝達の解析、さらに細胞内ウイルスセンサーであるRIG-Iヘリカーゼファミリーの発見へと続いてきた研究内容について紹介し、ウイルス増殖と自然免疫との関係について討論できればと思います。

○レセプターCD150遺伝子改変マウスを用いた麻疹ウイルス感染の解析

大野 真治（九州大学大学院医学研究院 ウイルス学）

ヒトCD150は麻疹ウイルス本来のレセプター分子であり、そのVドメインがレセプター機能に重要である。私たちはヒトCD150のVドメインを遺伝子ターゲティング法により組み込んだ遺伝子改変マウスを作製した。このマウスの解析結果と麻疹ウイルスの感染結果について報告する。

○HIV-1 インテグラーゼとゲノム動態

増田 貴夫（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 免疫治療学分野）

HIV-1は宿主細胞内に存在する数々の障壁をクリアーして感染を成立させている。本演題ではHIV-1ゲノムの組み込みを触媒するインテグラーゼおよびプレインテグレーション複合体と相互作用する宿主因子群に関する最近の知見をまとめてみたい。

○ポリオウイルスの体内伝播メカニズム

大岡静衣（東京大学大学院医学研究科）

ポリオウイルスがどうやって宿主側のバリアーを超えて最終ターゲットである中枢神経系の中へ侵入していくのか、そのメカニズムについてこれまでに明らかにしてきたことをご紹介します。

招待講演（7月13日）

○インフルエンザウイルスの転写・複製反応と宿主因子の関係

百瀬 文隆（北里大学北里生命科学研究所 ウイルス感染制御学研究室2）

ウイルスが増殖するためには宿主側の因子が必要であり、インフルエンザウイルスについても増殖に関与する宿主因子が数種類同定されている。これら宿主因子の特徴と役割について、「ウイルスRNAゲノム複製・転写反応」を中心に最新の成果を紹介する。

○インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構

野田 岳志（東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター 高病原性感染症研究部門）

インフルエンザウイルスのゲノムRNAは8本に分かれている。これらがウイルス粒子内にどのように取り込まれるのか、そのメカニズムは長年の謎であった。我々は、ゲノムRNAを取り込みつつある出芽粒子を電子顕微鏡を用いて観察し、ゲノムパッケージング機構の一端を明らかにした。

一般演題

○麻疹ウイルス C タンパク質の機能解析

中津 祐一郎 (九州大学医学研究院 ウイルス学)

多くのウイルスが宿主の自然免疫応答を回避するためのタンパク質をコードしている。麻疹ウイルスには V タンパク質と C タンパク質という 2 つのアクセサリタンパク質が存在し、V タンパク質は IFN signaling を抑制することが知られているが C タンパク質の機能はわかっていない。現在までに C タンパク質欠損麻疹ウイルスは増殖はできるものの、その効率が特定の細胞で非常に悪いことが知られていた。そこで C タンパク質欠損麻疹ウイルスを用いて解析を行った結果、C タンパク質は宿主の IFN 応答を回避するために必要なタンパク質であることを明らかにした。

○レトロウイルスの高分子インテグレーション複合体形成における核ラミナ構成タンパク質の役割について

鈴木 陽一 (京都大学ウイルス研究所附属新興ウイルス感染症研究センター宿主要因解析チーム)

レトロウイルスの感染成立には、クロマチンへのウイルス性 DNA の組み込み(インテグレーション)が必須である。実際の感染細胞で効率良くインテグレーションをおこなうには、ウイルス性 DNA とインテグラーゼだけでなく、様々なウイルス性ならびに宿主細胞性タンパク質から成る高分子インテグレーション複合体(preintegration complex: PIC) の形成が不可欠であるが、そのすべての構成因子は同定されておらず、また各タンパク質の PIC 機能における役割の詳細はわかっていない。演者は、マウスのレトロウイルスである MoMLV を用いて、細胞核のラミナ構造を形成するタンパク質である BAF と LAP2alpha が PIC を構成する分子であり、協調して PIC のインテグレーション活性を担っていることを明らかにした (Suzuki and Craigie, 2002, J. Virol., & Suzuki et al., 2004, EMBO J.). そこで、これまでの研究結果をもとに、レトロウイルスのインテグレーション過程における核ラミナ構成タンパク質の役割について発表したいと考えている。

○Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan

中山 英美 (大阪大学微生物病研究所 ウイルス感染制御分野)

Mutations in the human CC chemokine receptor 5 (*CCR5*) gene may alter the expression or function of the protein product, thereby altering chemokine binding/signaling or human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection of the cells that normally express CCR5 protein. We performed a systematic survey of natural sequence variations in an 8.1-kb region of the entire *CCR5* gene as well as *CCR2V64I* in Japanese subjects and evaluated the effects of those variations on *CCR5* promoter activity. There was no 32-bp deletion observed in European-Americans but 2 types of non-synonymous substitutions in *CCR5*. Our results showed several novel characteristics of the *CCR2-CCR5* haplotype structure that were not reported from studies on European-Americans and African-Americans. In particular, nearly all non-synonymous polymorphisms in *CCR5* occurred in haplotypes with elevated promoter activity. These results suggested the presence of a certain selective pressure favoring low levels of *CCR5* expression during human evolution.

○A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene enhances levels of IL-7 expression

宋 海瀚 (大阪大学微生物病研究所 ウイルス感染制御分野)

In this report, we demonstrated that out-of-frame ATGs in the upstream non-coding exon of IL-7 gene reduced the translation efficiency of IL-7. We also found a naturally occurring ATC deletion polymorphism at position -29 to -27 in the upstream non-coding exon next to one of the upstream ATGs. This polymorphism was found to be capable of increasing the gene expression. This is the first time human genetic polymorphism has been identified that affects translation efficiency of a protein by changing the translation efficiency from the out-of-frame AUG in the upstream non-coding region of mRNA.

○水疱性口内炎ウイルス (VSV) の糖タンパク質を用いたシュードタイピングに潜む問題点

大石 真久 (大阪大学微生物病研究所 ウイルス感染制御分野)

水疱性口内炎ウイルスのエンベロープ糖タンパク質 (VSV-G) をシュードタイプしたウイルスは様々な細胞へ侵入でき、高力価での産生も容易である。ところが、293T 細胞にヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) のプロウイルス DNA クローンと VSV-G 発現ベクターを共にトランスフェクトしたときの培養上清中の HIV-1 のキャプシドタンパク質 (p24) の量は、プロウイルス DNA クローンを単独でトランスフェクトしたときに比べて 10 倍以上高い。この VSV-G による p24 産生量の増強の機序を明らかにする目的で、HIV-1 の pol 遺伝子の変異体、VSV-G の膜融合欠損変異体、ならびに逆転写酵素阻害剤を使用して実験を行った。その結果、これらの変異体や阻害剤を使用して HIV-1 の感染サイクルを止めると p24 量の増加が見られなかった。したがって VSV-G をシュードタイプした HIV-1 が 293T 細胞に再感染し、その感染細胞から新たに HIV-1 が産生されたために p24 量が増加することが示唆された。さらに培養上清中の単位 p24 量当たりの VSV-G の量はトランスフェクション後 48 時間に比べて 24 時間の方が 5 倍以上多かった。これは再感染が起こると VSV-G シュードではない非感染性のウイルスの産生量が増加することを示しており、相対的に感染性のある VSV-G シュードのウイルスの量が減少することも示している。そのため、VSV-G シュードタイピングを利用して感染実験をする場合は、シュードタイプウイルス産生後の再感染の有無にも注意を払う必要がある。

○融合細胞を用いたインフルエンザウイルスゲノム集合過程の解明

滝沢 直己 (筑波大学人間総合科学研究科)

インフルエンザウイルスの特徴の一つはゲノムが 8 本に分節化されている点にある。しかし、感染細胞内で分節化したゲノムが感染サイクルのどの段階で集合し、子孫ウイルス産生に向かうのか全く明らかにされていない。本研究ではインフルエンザウイルスゲノムが集合する細胞内コンパートメントの同定を目的として、温度感受性変異株および細胞融合を用いて感染細胞内のどこでゲノム集合が行われるかについて解析を行った。現在まで、異なる分節に変異を持つ 2 種の温度感受性変異株を 1 つの細胞に共感染させると細胞内で分節間の組換えが起こり、一定の割合で野生型ウイルスが産生されること、および子孫ウイルスゲノムは一度核外に排出されると核内に再移行しないことが知られている。これらの知見より、それぞれ異なる温度感受性変異株を感染させた 2 種の細胞を融合させ、融合細胞における野生型ウイルス産生の有無について測定をした。この結果、融合細胞からの野生型ウイルス産生が確認されたことからインフルエンザウイルスゲノムは細胞質で集合することが示唆された。現在、同様の系を用いて分節間の特異性の有無について検討を進めている。