

第 16 回ウイルス学キャンプ 聴講録

招待講演「一・二・三分節マイナス鎖 RNA ウイルスの細胞内増殖機構の解析」

講師：浦田秀造 先生（長崎大学熱帯医学研究所 新興感染症学分野）

「一・二・三分節マイナス鎖 RNA ウイルスの細胞内増殖機構の解析」を拝聴して

福岡大学 理学部 日本学術振興会特別研究員

森山美優

<概要>

マイナス鎖 RNA ウイルスに属するエボラウイルスやラッサウイルスはアフリカ地域においてエボラウイルス病やラッサ熱の散発的・定期的な流行を引き起こします。また同じくマイナス鎖 RNA ウイルスに分類される重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）は日本を含む東アジア地域に常在する致死率約 30%の感染症の原因ウイルスです。今回、これらのウイルス粒子産生機構や細胞内増殖機構に関する最新の知見を長崎大学の浦田秀造先生にお話しいただき、聴講録を作成させていただきました。

1. エボラウイルス VP40 タンパク質 YIGL 配列の機能解析

エボラウイルスの VP40 タンパク質はウイルス粒子産生やウイルスゲノム複製抑制機能有する約 326 アミノ酸の構造タンパク質です。YxxL 配列（x は任意のアミノ酸）はウイルスの出芽に関わる宿主因子との相互作用に重要であることが知られていますが、浦田先生は 5 種のエボラウイルスの VP40 タンパク質の間で高度に保存されており、分子表面に露出している 292 番目から 295 番目の YIGL 配列に着目されました。浦田先生は、YIGL 配列を全てアラニンに置換した変異 VP40 タンパク質では細胞膜成分のホスファチジルセリンとの共局在が消失し、ウイルス様粒子（VLP）を形成しないことを明らかにされました。またミニゲノムアッセイと呼ばれるウイルスゲノム複製の評価系を用いて、YIGL 配列を全てアラニンに置換した変異 VP40 タンパク質では野生型と比較してウイルスゲノム複製の抑制効果が増強することを明らかにされました。次に YIGL 配列の機能を詳細に調べるため YIGL 配列のアミノ酸を一つずつアラニンに置換し、VP40 タンパク質の 293 番目のイソロイシンと 295 番目のロイシンがウイルス粒子産生に重要であることや、294 番目のグリシンがウイルスゲノム複製抑制に重要であることを明らかにされました。さらに浦田先生は *in silico* 解析手法を用い、YIGL 配列のそれぞれのアミノ酸に変異を入れた時に、立体構造上で隣接した分子内アミノ酸の安定性の変化を観察されました。この手法により、VP40 タンパク質の機能には 292 番目のチロシンと 164 番目のプロリン、295 番目のロイシンと 209 番目のフェニルアラニンの相互作用が重要であることが明らかとなりました。

2. ラッサウイルス、SFTSV のウイルス増殖阻害剤の探索

浦田先生は新規抗ウイルス薬の探索のため、米国食品医薬品局（FDA）認可化合物ライブラリーを用いてラッサウイルスおよび SFTSV の感染に対するウイルス増殖阻害剤の化合物スクリーニングを試されました。ラッサウイルスの感染に対する増殖阻害効果を簡便かつ迅速に評価するため、浦田先生はまず、病原性の高いラッサウイルスの代わりに同じアレナウイルス科に属し、低い封じ込めレベルで扱うことのできるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）を用いた評価系を立ち上げました。LCMV のゲノムは二分節に分かれており、短い S 分節に N タンパク質と GP タンパク質、長い L 分節に L タンパク質と Z タンパク質をコードしています。浦田先生はリバーシジェネティクス法を用いて、N タンパク質と緑色蛍光タンパク質（GFP）、GP タンパク質と GFP をコードする 2 種類の S 分節を持ち、三分節が揃って初めて増殖することができる三本鎖 GFP 発現ウイルス

（3rGFPLCMV）の作製に成功されました。この 3rGFPLCMV を用いて化合物スクリーニングを行った結果、43 化合物がヒットしました。また野生型の SFTSV 感染細胞の SFTSV N 抗原をウイルス増殖の指標とし、化合物スクリーニングの結果 27 化合物がヒットしました。興味深いことに、これら両ウイルスの増殖を阻害した共通の 12 化合物の中で 4 化合物がカルシウムチャンネル阻害剤であったことから、浦田先生は電位依存性カルシウムチャンネル（VDCC）阻害剤の Manidipine による SFTSV 増殖阻害機構の解析を行われました。すると Manidipine はウイルスゲノム複製を抑制していることや、細胞内カルシウムシグナルを担うカルシニューリンの阻害剤であるシクロスポリン A も SFTSV 増殖を阻害することを見出されました。Manidipine によるウイルス増殖阻害効果は SFTSV 以外のマイナス鎖 RNA ウイルスにも認められたことから、広範なウイルス感染症に有効な抗ウイルス薬候補として期待されます。

3. 長崎大学 BSL4 施設について

エボラウイルスやラッサウイルスはヒトにおける高い病原性から、バイオセーフティーレベル 4（BSL4）の実験室で扱う必要があります。しかしながら、現在の日本は稼働している BSL4 施設を有しないため、浦田先生はこれまで南アフリカ共和国の BSL4 施設にて感染性のエボラウイルスを用いた VP40 タンパク質の研究を進められてきました。グローバル化した現在、エボラウイルスやラッサウイルスなどの病原体が日本に持ち込まれ拡がる可能性があるため、浦田先生が所属されている長崎大学では 2022 年の運用開始を目標に BSL4 施設の設定が進められています。

<感想>

浦田先生は大学院生時代に第 4 回ウイルス学キャンプに参加され、その時に九州大学の柳雄介先生の紹介で留学先を見つけた思い出深い会だと仰っていました。私自身、このウイルス学キャンプには計 5 回参加させていただいたおかげで、全国各地の同世代の大学院生

と知り合うことができ、この会には深い思い出があります。私も来月からアメリカへ留学しますが、またこの湯河原で世話人の先生方や同世代のウイルス仲間と再会できるように頑張らなくてはならないと思いました。

最後に、基礎のウイルス学研究から BSL4 施設まで、ここでしか聞けない最先端のお話をさせていただいた浦田先生と、聴講録を作成する機会を与えてくださった先生方に深く感謝申し上げます。

