

論文内容の要旨

論文題目 病原性麻疹ウイルスの遺伝子と弱毒化機構の解析

氏名 竹田 誠

ウイルスの研究にとって培養細胞を用いて患者材料からウイルスを分離することは極めて有益な手段であり、ウイルス研究のひとつの基盤になっていることは言うまでもない。しかし、生体条件とは大幅に異なる条件下でウイルスを得る以上、あるいは本来の病原性ウイルスとは根本的に異なるウイルスを、雑多な集団の中から選り分けた可能性があり、その疾病を発生させたウイルスの特徴をそのまま表しているとはいえない。ゲノムに生じた変異を許容しつつ準種 (quasispecies) と呼ばれる雑多な集団を形成し、少々が悪条件でもその環境に適応 (馴化) した子孫集団を形成し生き残ることが、RNA ウイルスのひとつの特徴である。これまで麻疹のウイルス学を描いてきた Edmonston 株もその例外ではなく、高度に培養細胞に馴化した同株は本来の病原性を消失し、実際に自然界に存在する病原性麻疹ウイルスをどの程度反映しうるのかについては、はなはだ疑問である。一方、1990 年に小船らによってマーモセット B リンパ芽球由来 B95a 細胞を用いることにより、病原性を保持した麻疹ウイルスが分離できることが報告された。その技術を基盤にして、B95a 細胞で分離した病原性麻疹ウイルスのゲノム構造をはじめて明らかにし、Edmonston 株の遺伝子構造との比較を行った。ウイルスのゲノム長 (15,894 塩基) は、両株で同一であった。ゲノム全体で 456 塩基の違い (2.93%) とそれに伴い予想される 114 個 (2.19%) のアミノ酸の違いがみられた。しかし、トレーラー配列、転写開始、転写終結、介在配列などのシス領域は完全に保存されていた。V、F、M などいくつかの ORF は非常によく保存されていた。RNA ウイルスにとって同じ遺伝子領域に構造変化を許容しない制

約の強いタンパク質をフレームを変えて複数コードすることは、その生存に困難をもたらす可能性がある。そのために重複フレームをもつ P 遺伝子は、単一のタンパク質をコードする遺伝子にはみられない独特な進化のパターンを示した。すなわち、保存性が高く機能的制約が強いと考えられる C タンパク質を、変異に寛容な P タンパク質と共に配置することにより、困難を回避しているものと考えられた。

また、病原性麻疹ウイルスが Vero 細胞への馴化の過程で弱毒化することが知られている。その Vero 細胞への馴化に伴い B95a 細胞での細胞融合能が低下することが示され、弱毒化の一因と考えられた。そこで、B95a 細胞で分離された病原性株が、Vero 細胞へ馴化し弱毒化する過程で遺伝子や各ウイルスタンパク質の機能にいかなる変化が生じるのかについて系統的に解析した。病原性株と同様に馴化・弱毒化したウイルスの全ゲノム構造を明らかにして、馴化・弱毒化に伴う遺伝子構造の変化を明らかにした。塩基の置換はわずか 8 個であり、それら全てが ORF 内にみられる非同義置換であった (P、H、L ORF にそれぞれ 2、3、3 個)。レセプターとの結合タンパク質である H タンパク質に 3 つのアミノ酸変化が生じていたが、発現ベクターを用いて発現させた変異 H タンパク質の機能解析からそれらの変異は B95a 細胞での細胞融合能の低下には無関係であり、また別の馴化株の解析から Vero 細胞への馴化に H タンパク質の変化は必須でないことが明らかにされた。一方、Vero 細胞馴化に伴い B95a 細胞内での転写効率が低下しており、それはポリメラーゼ (P と L) やアクセサリタンパク質 (C と V) に散見されるわずかの (多くとも 5 つの) アミノ酸変化に起因していることが示唆された。この転写の障害による B95a 細胞でのウイルス増殖能の低下と糖タンパク質の発現量の低下に由来する細胞融合能の低下がサルにおける弱毒化の主要な原因となっていると考えられた。