

[ 別紙 2 ]

## 審査の結果の要旨

氏名 竹田 誠

本研究は、ヒトの感染症の中でもとりわけ重要な疾患である麻疹の病原性発現のメカニズムを解明することを目標に、病原性を保持している麻疹ウイルスおよびそれより派生した弱毒株を系統的に解析したものであり、下記の結果を得ている。

### 1) 病原性麻疹ウイルスの全ゲノム構造の解明

麻疹ウイルスにおいて、これまでに全ゲノム構造が明らかにされていた株は、約半世紀前に分離され、また非リンパ系培養細胞で継代をくり返し、その結果として高度に弱毒化した Edmonston 株（およびそれより派生したワクチン株）のみであった。一方、マーモセット B リンパ球由来の B95a 細胞を用いて分離される株は、サルに対してヒト麻疹と本質的に同様の病態を示し得るが、そのような病原性株は、病原性のみならず、培養細胞における細胞指向性についても Edmonston 株とに大きな違いが示されている（Kobune ら 1990 年、1996 年）。ゲノム構造においても、あるいは際立った違いがみられることが予想されたが、解析に用いた病原性 9301B 株のゲノム長は 15894 塩基と Edmonston 株と同一であり、リーダー、トレーラー、6つの各遺伝子間にみられる転写開始、転写終結、介在配列などのシス領域は、リーダー配列にみられた 3 塩基を除き完全に保存されていた。また 2 番目の P 遺伝子にコードされている 2 つの

アクセサリタンパク質 C および V タンパク質（前者は P タンパク質とフレームを違えて P 遺伝子上に重複してコードされ、後者は RNA 編集モチーフと考えられる特異なシス領域によって鑄型にはないグアニンを mRNA に付与することにより生じる）も同部位にコードされており、RNA 編集モチーフにも違いはみられなかった。しかしながら、個々の塩基、アミノ酸レベルでは、ゲノム全体で 456 塩基（2.93%）、114 アミノ酸（2.19%）の違いがみられた。

## 2) Vero 細胞馴化に伴うゲノム構造の変化

病原性を保持した麻疹ウイルスは、本来 Vero 細胞では増殖しない。そして、病原株を同細胞で継代することにより得られる株が、Edmonston 株と同様にサルに対して弱毒化していることが知られている（Kobune ら 1990 年、1996 年）。そこで、麻疹ウイルスの細胞馴化やそれに伴う弱毒化の過程で生じるゲノム変化について解析した。Edmonston 株との比較では多数の塩基やアミノ酸の変化が観察されたが、病原性 9301B 株と、それより派生した Vero 細胞馴化弱毒 9301V 株のゲノム構造の違いは、アミノ酸変化を伴ったわずか 8 塩基（P 遺伝子に 2 個、H 遺伝子に 3 個、L 遺伝子に 3 個）であり、ごく小数のアミノ酸変化が細胞指向性や病原性の変化を引き起こしていることが示された。

## 3) 細胞指向性の変化と H タンパク質の関与

培養細胞での観察から Vero 細胞への馴化に伴い、本来の宿主である B95a 細胞での増殖能や、麻疹ウイルスの細胞変性の特徴である合胞体巨細胞の形成能（細胞融合能）が低下することが示された。細胞融合にはレセプターとの結合タンパク質である H タンパク質が必要であるが、B95a 細胞上に発現させた H タンパク質（および細胞融合に本質的に関わる F タンパク質）の解析結果から、9301V 株で観察された H タンパク質のアミノ酸変化は、巨細胞形成能の低下には無関係であることが示された。また 9301B、9301V 株の 1 組に加えて、他の病原性株の 2 株と各々の Vero 細胞馴化・弱毒株を解析したが、うち 1 組では H タンパク質のアミノ酸構造に

変化はなく、にもかかわらず 9301 株のペアと同様に、Vero 細胞への馴化とそれに伴う弱毒化、B95a 細胞での巨細胞形成や増殖能の低下が引き起こされており、そのような表現型の変化に H タンパク質の変化は必須ではないことが明らかになった。

#### 4) 弱毒化と転写能の低下

9301B と 9301V 株の B95a 細胞での一次転写量、ゲノム複製量、二次転写量、タンパク合成量を比較したところ、一次転写の段階ですでに 9301V 株の転写量が低下していることが明らかになった。引き続きゲノム複製、二次転写、タンパク合成の全てで 9301B 株に比べて 9301V 株のそれらは低下していた。すなわち、一次転写の段階で観察される転写効率の低下が B95a 細胞での増殖能や、巨細胞の形成能（細胞融合能）低下の原因であると考えられ、おそらくは、サルにおける病原性の低下にもつながっていると予想された。

以上、本論文はこれまでほとんど解析されたことのなかった病原性麻疹ウイルスを、はじめて系統的に解析した論文である。また、これまで全く未知であった病原性麻疹ウイルスの細胞馴化における弱毒化の分子生物学的背景を、はじめて明らかにした論文である。本研究は、今後続くであろう麻疹ウイルスの病原性発現機構の解析の基盤となるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。