

論文内容の要旨

The Molecular Evolutionary Study of Rubella Virus

風疹ウイルスの分子進化に関する研究

指導教員：水口 雅 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月進学

博士後期課程

国際保健学専攻

しゅう ぎょくばい

周 玉梅

Zhou Yumei

要約

風疹ウイルスはヒトの急性発疹を伴う感染症を来す。また先天性風疹症候群として奇形を伴う疾患を起こす。野生の風疹ウイルスの遺伝子配列からの分子情報は風疹のサーベイランスに重要である。しかしながら、現時点まで 13 の遺伝子型の中の 2 つの遺伝子型のみ全遺伝子配列が決められている。風疹ウイルスの遺伝子配列のデータベースを広げ、そして風疹ウイルスのゲノムの進化パラメータをさらに現実的に評価するために、この研究では、6 つの遺伝子型の 9 株について全ゲノム配列を決めた。以前に報告された全ゲノム配列とあわせて 8 つの主な遺伝子型に属する 19 ウイルスゲノムを塩基、コドン、アミノ酸のレベルで系統的に解析を行った。総じて、19 全ゲノムを比較した結果、ともに同じ長さの 2 つの ORF (NSP と SP) と 5' 末端と 3' 末端の非翻訳領域があった。2 つの ORF の

間の junction 非翻訳領域だけに僅かの欠失変異が見られた。従って、風疹ウイルスのゲノムは良く保持されていたことが示唆された。塩基配列においてゲノムの最大の observed distance と genetic distance はそれぞれ 8.74% と 100 塩基部位で 14.78 の置換であった。これらの相違の程度はゲノムの部位でほとんど同じであるが 2 つの部位だけで異なることが見られた：N 末端領域のメチル/グアニリルトランスフェラーゼ領域は変異が少ないこと、一方、非構造タンパク (NSP) の P150 の中央部の超可変領域 (HVR) はもっと相違がある。しかしながらアミノ酸配列の相違は一貫していなかった。HVR 領域が依然相違が大きい (33.6% まで)、他方、NSP-ORF の P90 および SP-ORF の E1 より NSP-ORF の P150 および SP-ORF の E2 領域が明らかにもっと相違があった。即ち、P90 と E1 領域は同義置換が多かった。全体でゲノムのアミノ酸組成において疎水性および脂肪族アミノ酸が多く、特に、NSP の HVR と SP の capsid 領域ではプロリンとアルギニンが多かった。

エキストラの 24 株ウイルスにおいて、全ゲノムを代表する 3 箇所のサブゲノムドメインの塩基配列を決めた。この三つのサブゲノムドメインに対する広範囲な比較系統樹解析を 43 株で行ったところ、1B 遺伝子型を除いて同じ系統樹の群に属した。1B では 2 つの ORF の junction 領域付近に組み換えがあるためによる。組み換えは風疹ウイルスの遺伝子進化に影響を示していると思われた。さらに行った NSP 遺伝子の 3 つのコドン部位の配列による系統樹やその遺伝子の塩基配列に対する分解進化ネットワーク系統樹解析でもこの考えが支持された。

ゲノム配列の塩基組成とコドン使用頻度を調べると、8つの遺伝子型の間での差は少ないが、ゲノム内の各領域またはドメインでの塩基組成およびコドン使用頻度は領域およびコドンの位置によって異なった。風疹ウイルスのゲノムはGC組成が多く、GCの使用頻度に強く偏ることが仮定していたが、実際は、最高頻出するコドンにおいて三番目のみはGCを強く使用し、第一および第二コドン部位の塩基中のGC使用は強くなかった。さらに、コドン三番目のGC組成(GC3)と、第一と第二番目のGC組成(GC1とGC2)あるいは実効コドン数(N_c)との正負の相関関係から、風疹ウイルスのコドン使用頻度を決める大きな要因は方向性突然変異圧であることを示した。しかしながら、この特徴はHVR領域では見られなかった。突然変異圧より自然選択の方がHRV領域には強く見られた。もっと興味深いことは、ウイルスと宿主に、頻出するコドンとコドン各部位のGC組成が一致して見られたことが見られ、風疹ウイルスが宿主細胞の代謝機構を有効に利用し、ウイルスの増殖を強く維持することが明らかになった。

この研究では、非同義置換率と同義置換率との割合(ω)の計算を行い、正の自然淘汰を受けたアミノ酸部位を調べた。風疹ウイルスのゲノムにおいては多くの所ではかなり負の自然淘汰(純化淘汰)を選択されていたが、HVR領域の4か所、CおよびE1タンパクの2か所ずつで正の自然淘汰が示された。これらの正の自然淘汰を受けた部位の機能は、ウイルスの複製、免疫、感染性に関連し利点があるとわかった。

さらに、Clade 1 の E2 に反応するが Clade 2 の E2 に反応しないモノクローナル抗体を見出し、E2 領域の異なった抗原反応性が認められた。これを用いると 2 つの Clade に属するウイルスを区別することができると思われた。