

[課程-2]

審査の結果の要旨

カシオ ポンテス オクタヴィアニ
氏名 CASSIO PONTES OCTAVIANI

本研究はインフルエンザウイルスの遺伝子交雑およびパンデミックウイルス出現の機構をより深く追究するため、培養細胞を用いた種々の手法により 2009 パンデミック (H1N1) インフルエンザウイルス、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス、および季節性インフルエンザウイルスの相互の遺伝的親和性の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 培養細胞に H5N1 鳥インフルエンザウイルスおよび 2009 パンデミックインフルエンザウイルスを同時に感染させたところ、感染細胞から放出された子孫ウイルスの中に感染させた二つのウイルスの遺伝子を様々な組み合わせで持つ組み換え型ウイルスが存在していた。また、組み換え型ウイルスは高い比率で存在しており、このことから、自然界においても H5N1 鳥インフルエンザウイルスおよび 2009 パンデミックインフルエンザウイルスの同時感染により組み換え型ウイルスが容易に生じる可能性が示唆された。
2. リバースジェネティクス法により、H5N1 鳥インフルエンザウイルスと 2009 パンデミックインフルエンザウイルスとの間でウイルス RNA ポリメラーゼ関連遺伝子を入れ替えた組み換え型ウイルスを作製した。これらの組み換え型ウイルスの増殖能力を測定したところ、いずれの組み換え型ウイルスも高い増殖能力を有しており、H5N1 鳥インフルエンザウイルスおよび 2009 パンデミックインフルエンザウイルスとの間で遺伝子交雑がなされることによって新たなパンデミックインフルエンザウイルスが出現する可能性が示唆された。
3. H5N1 鳥インフルエンザウイルスおよび 2009 パンデミックインフルエンザウイルスのウイルス RNA ポリメラーゼ構成要素を組み合わせる組み換え型ウイルス RNA ポリメラーゼを作製し、活性をレプリコンアッセイにより測定したところ、すべての組み合わせにおいて組み換え型ウイルス RNA ポリメラーゼは活性を有していた。このことから、H5N1 鳥インフルエンザウイルスと 2009 パンデミックインフルエンザウイルスとの遺伝的親和性が高いことが示唆された。
4. 2009 パンデミックインフルエンザウイルスおよび季節性 H1N1 インフルエンザウイルスの遺伝子を組み合わせる組み換え型ウイルスを作製し、増殖能力を測定したところ、季節性 H1N1 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子と 2009 パンデミックウイルスの NA および M 遺伝子を合わせ持つ組み換え型ウイルスは組み換え前の二種類のウイルスより

も高い増殖能力を有することが明らかとなった。このことから、2009 パンデミックインフルエンザウイルスと季節性 H1N1 インフルエンザウイルスとの遺伝子交雑は新たなパンデミックインフルエンザウイルスが出現する原因となり得ることが示唆された。

5. ウイルスと細胞との親和性の調査およびウイルス粒子の電子顕微鏡観察により、組み換え型ウイルスの増殖能力の高さに関係し得るような細胞への吸着能力やウイルス粒子の形状の違いが明らかとなった。
6. 2009 パンデミックインフルエンザウイルスおよび季節性 H1N1 インフルエンザウイルスとの間で組み換え型ウイルス RNA ポリメラーゼおよび組み換え型ウイルスを作製し、それらの活性および増殖能力をそれぞれ測定したところ、2009 パンデミックインフルエンザウイルスの PB2 タンパク質と季節性 H1N1 インフルエンザウイルスの PB1 タンパク質を含む組み換え型ウイルス RNA ポリメラーゼの活性は低く、そのようなウイルス RNA ポリメラーゼを持つ組み換え型ウイルスの増殖能力も低いことが明らかとなった。このことから、2009 パンデミックインフルエンザウイルスおよび季節性 H1N1 インフルエンザウイルスの間には遺伝的な不和が存在することが示唆され、このような遺伝的不和はインフルエンザウイルスの系統間の遺伝子交雑における制限要素であると考えられる。

以上、本論文は 2009 年パンデミック (H1N1) インフルエンザウイルスと現在流行しているインフルエンザウイルスについて、ウイルスの遺伝子交雑に関与する因子を明らかにした。本研究はパンデミックインフルエンザウイルスの再出現に関与し得る新規かつ重要な分子機構を呈示するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。