
家禽でのトリインフルエンザウイルス増殖に必要な宿主因子の検索

国立感染症研究所ウイルス第三部・主任研究官 酒井 宏治

■ 目的

トリインフルエンザウイルス(AIV)が感染性を発揮するには、ウイルス膜タンパク質のHAがプロテアーゼによりタンパク質分解性の修飾(HAの開裂)を受け、膜融合活性を発現する必要がある。AIVは自身でプロテアーゼ遺伝子を持たないため、HAを開裂できるプロテアーゼを宿主から借用する必要があり、AIV増殖場所はそのプロテアーゼが存在する組織に限定される。申請者は、季節性インフルエンザの哺乳類(マウス)での病原性発現には、呼吸器に発現しているセリンプロテアーゼ Tmprss2のみが必須の宿主因子であることを明らかにした。一方、トリ生体内でHAを開裂する宿主プロテアーゼは不明である。本申請では、AIV増殖に必須な、トリ(特に鶏)の宿主因子の検索・同定を試みた。

■ 方法

鳥類のセリンプロテアーゼ遺伝子の同定のために、肺及び腸管、胚の組織 Total RNA から、Tmprss2、Tmprss13、ST14 遺伝子の増幅とクローニングを試みた。各遺伝子の増幅に用いたプライマーは、ニワトリとアヒルの全ゲノム情報から作製した。また、タンパク質機能解析のために、それらを発現プラスミドにクローニングし、培養細胞の強制発現系でAIVのHA開裂解析を実施した。更に、肺組織の Total RNA を用いて、次世代シーケンサーによる、鳥類のトランスクリプトーム解析(発現している遺伝子とその量を網羅的に解析)を実施し、ニワトリ及びカモの肺で発現しているセリンプロテアーゼ遺伝子の同定を試みた。

■ 結果および考察

Tmprss2、Tmprss13、ST14 の遺伝子増幅を行い、ニワトリ Tmprss2 及び Tmprss13 は肺、腸管、胚から、ニワトリ ST14 は胚からのみ特異的増幅産物を得、配列を決定した。マガモの肺、腸管、胚から、同様に遺伝子増幅を試みたが、これまでのところ、用いたプライマーと組織の組み合わせでは、カモ Tmprss2 は腸管からのみ特異的増幅産物を得た。

鳥類セリンプロテアーゼ(Tmprss2、Tmprss13、ST14)のタンパク質機能解析では、ニワトリ Tmprss2 及びニワトリ ST14 ではHA開裂が認められ、ニワトリ Tmprss13 では開裂は検出限界以下であった。

次世代シーケンサーを用いて、鳥類の肺で発現している遺伝子の網羅的解析を実施し、ニワトリ肺でそれぞれ約8200万配列を得た。マガモ肺から得られたカモ Tmprss2 遺伝子配列は、50readsの配列から得られ、登録されているアヒルの全ゲノム情報から得た推定アヒル Tmprss2 のアミノ酸配列と比較し、1か所のアミノ酸変異が認められた。他のセリンプロテアーゼ遺伝子、組織の特異的な遺伝子発現量については、現在解析中である。

■ 結語

ニワトリ Tmprss2 及びニワトリ ST14 はAIVのHA開裂能を有し、ニワトリ Tmprss13 はHA開裂能が認められなかった。ニワトリ Tmprss2 及び Tmprss13 は肺、腸管、胚に遺伝子発現が認められたが、ニワトリ ST14 は胚からのみの検出で、肺、腸管では検出限界以下であった。