
鳥インフルエンザウイルス酵素活性の基質特異性 および pH 依存的性状の機能解析

静岡県立大学大学院薬学研究院生化学講座・准教授 高橋 忠伸

■ 目 的

2013 年から現在まで、中国で A 型インフルエンザウイルス (IAV) の H7N9 型鳥 IAV の人への感染例が多く報告されている。H7N9 型鳥 IAV の人への感染伝播は、鶏との接触を介しているものと考えられている。人へ伝播した鳥 IAV は人-人の中で効率的に感染拡大し、新型 IAV として世界規模の大流行 (パンデミック) を起こす恐れがある。人に感染した H7N9 型鳥 IAV の表面に存在する二つの主要糖タンパク質のうち、ノイラミニダーゼ (NA) の性状についてはよく分かっていない。NA は、ウイルス受容体のシアル酸を基質として糖鎖末端から切断する加水分解酵素「シアリダーゼ」の活性を示す。本研究は、N9 型 NA のシアリダーゼ活性の性状解析からヒトへの伝播機構の一端を解明することが目的である。NA の性状は、pH4 ~ 5 の酸性条件においてシアリダーゼ活性を安定に維持する pH 依存的な性状「酸性安定性」と、糖鎖末端シアル酸の主要分子種 *N*-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) および *N*-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc) に対する基質特異性について解析する。

■ 方 法

変異を導入した NA 遺伝子を発現させた人胎児腎由来 293T 細胞を pH4.0 ~ 6.0 で 37°C、10 分間処理後、市販の蛍光基質 4-methylumbelliferyl Neu5Ac (4MU-Neu5Ac) を使用してシアリダーゼ活性を測定し、酸性安定性 (pH4 ~ 5 のシアリダーゼ活性) を比較した。これにより、酸性安定性を決定するアミノ酸置換を同定した。同定したアミノ酸置換を導入した N9 型 NA 遺伝子を有する IAV のウイルス増殖性を評価した。水溶性蛍光物質 4-methylumbelliferone (4MU) に Neu5Gc を結合させて蛍光性をオフ制御した 4MU-Neu5Gc を利用することで、シアル酸の主要分子種 Neu5Ac および Neu5Gc に対する NA のシアリダーゼ活性の基質特異性を測定した。

■ 結果および考察

人に感染した鳥 IAV の N9 型 NA で、pH 依存的な安定性を決定するアミノ酸置換を同定した。同定したアミノ酸置換はすべて、シアリダーゼ活性部位あるいはホモ四量体構造のサブユニット間会合部位やそれらの近傍に位置していた。この結果は、筆者が明らかにしてきた人 IAV の N1 型および N2 型 NA の酸性安定性を決定するアミノ酸置換の位置と同様であった。同定したアミノ酸置換に基づいて、鴨 IAV の N9 型 NA の酸性安定性を低下させた NA 遺伝子を有する IAV を作製した。酸性安定性を低下させた IAV の増殖性は低下した。筆者は、人 IAV の N1 型および N2 型 NA の酸性安定性はウイルス増殖性を促進する機能があることを明らかにしており、本研究から鳥 IAV の N9 型 NA にも同様な機能があることが判明した。人に感染した鳥 IAV の N9 型 NA のシアル酸分子種に対する基質特異性は、一般的な鳥 IAV と類似していた。

■ 結 語

鳥 IAV の N9 型 NA の酸性安定性がウイルス増殖性を促進する機能があることを明らかにした。この機能は過去にパンデミックを起こした人 IAV の NA と同様であり、パンデミック発生要因の一つになり得る可能性がある。NA の他の基質特異性についても調査していく。