

鳥インフルエンザウイルスの高病原性化に伴う プロテアーゼ指向性変化の解明

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

インフルエンザ A ウイルス (IAV) が感染性を発揮するには、ウイルス膜蛋白質の HA が宿主のプロテアーゼにより蛋白質分解性の修飾 (HA 開裂) を受け、膜融合活性を発現する必要がある。つまり、ウイルス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。特に、鳥 IAV の場合、HA 開裂部位が mono-basic なウイルスの増殖は呼吸器と消化管に限局され、鶏では低病原性であるが、HA 開裂部位が multi-basic のウイルスは全身に存在する普遍性プロテアーゼにより HA が開裂されるため、様々な臓器で増殖することができ、鶏では致死的な高病原性となる。高病原性鳥 IAV は、家禽に侵入した低病原性鳥 IAV の HA 開裂部位にウイルス変異 (塩基性アミノ酸の挿入) が起こり、プロテアーゼ指向性が変化し、致死的な病原性を獲得することが知られているが、その詳細な機序等は不明である。本申請研究では、これまで得られた Tmprss2 に関する知見に基づき、その解明を試みた。

■ 方 法

Tmprss2 依存性の検証と Tmprss2 以外の新たなプロテアーゼ利用能の獲得機序の解明：野生型マウスと Tmprss2 遺伝子欠損マウスの 2 系統のマウスあるいは各々から作出した初代呼吸器細胞を用いた。Tmprss2 依存性が認められた場合、Tmprss2 遺伝子欠損マウスあるいは Tmprss2 遺伝子欠損マウス呼吸器組織由来細胞での連続継代を実施し、Tmprss2 非依存的ウイルスの作出を試みた。Tmprss2 非依存的ウイルスについては、親株と遺伝子配列の比較解析を実施した。

ST14 依存性の検証：ST14 が自己開裂できない変異を導入した不活性型 ST14 変異マウスの作出を行った。不活性型 ST14 変異マウスを用いて、Tmprss2 以外のプロテアーゼ利用能を獲得したウイルスの生体内での HA 開裂プロテアーゼが ST14 であるかどうか、検証を試みた。

■ 結果および考察

HA 開裂部位が mono-basic な配列を持つインフルエンザウイルスにおいて、HA 開裂に必要な宿主因子は、Tmprss2 であるという共通原理が異なる亜型間でも成立することが明らかとなった。また、Tmprss2 遺伝子欠損細胞等での連続継代で、Tmprss2 非依存的ウイルスが、ウイルス変異で生じることが、複数の亜型で明らかとなった。Tmprss2 以外の新たなプロテアーゼ利用能獲得に関わる機序も共通しており、『立体構造的に HA 開裂部位近傍の糖鎖欠損』と『HA 開裂部位への塩基性アミノ酸への置換』が認められたが、『塩基性アミノ酸の挿入ではなかった』。立体構造的に HA 開裂部位近傍の糖鎖欠損は、Tmprss2 以外のプロテアーゼの HA 開裂部位への物理的なアクセスを可能にし、HA 開裂部位への塩基性アミノ酸置換は電荷への変化に関与していると考察している。塩基性アミノ酸の挿入については、マウス実験系自体の限界と考えられた。

不活性型 ST14 変異マウスについては、遺伝子改変したモザイクマウスから、不活性型 ST14 遺伝子組換えヘテロマウスを作出できたが、ホモマウスでは発育不良・出産後の体調悪化により、研究期間中に系統を作出できなかった。

■ 結 語

HA 開裂部位が mono-basic なインフルエンザウイルスの生体内での HA 開裂は、これまでに報告した季節性インフルエンザウイルスと同様に、Tmprss2 が重要な宿主因子であることを実証した。更に HA 開裂部位近傍の糖鎖欠損及び HA 開裂部位における塩基性アミノ酸への置換により、Tmprss2 以外のプロテアーゼ利用能を獲得することを明らかにした。