
牛呼吸器病症候群の原因となる 牛パラインフルエンザウイルス 3 型の病原因子解析

(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門動物感染症研究領域・主任研究員 安藤 清彦

■ 目的

牛の呼吸器病症候群(Bovine respiratory disease complex : BRDC)は、子牛や肉牛の傷病事故の約 2 割を占める疾患であり、その制御は牛産業界における大きな課題である。一般的に、BRDC はウイルスによる一次感染が引き金となり細菌の二次感染を誘発して発症するため、その予防にはウイルスの一次感染を防ぐことが極めて重要である。ウイルス感染に対して有効な対策を講じるためには、ウイルスの病態にかかわるメカニズムを解明することが不可欠である。

我々は 2022 年度の本研究助成において、BRDC 原因ウイルスの一つである牛パラインフルエンザウイルス 3 型(BPIV3)の病態にかかわる分子基盤の解明を目的とした臨床分離株の解析を行った。その結果、“培養細胞における増殖性が低く”、“感染細胞においてインターフェロン(IFN)応答やアポトーシスを強く誘導する”という特殊な性質を示す NM14 株を発見した。本研究では、この臨床分離株をより詳細に解析するため、様々な臨床分離株の細胞融合活性を比較するとともに、ウイルスタンパク質を組換え発現させて臨床分離株の表現型の違いを規定するウイルス因子の同定を試みた。

■ 方法

当研究室で過去に収集した BPIV3 臨床分離株を用いて、分割型ルシフェラーゼを発現させた VERO E6 細胞に各ウイルスを様々な濃度で同時接種し、ウイルス接種 48 及び 72 時間後のルシフェラーゼ活性を測定することで細胞融合活性を定量した。臨床分離株のゲノム RNA からウイルスタンパク質 HN、F、P、V、D、C タンパク質をコードする配列をクローニングした。HN 及び F タンパク質発現プラスミドを分割型ルシフェラーゼとともに VERO E6 細胞に発現させて細胞融合活性を解析した。P、V、D、及び C タンパク質は、IFN 応答を測定するためのレポータープラスミドと共に 293T 細胞に導入し、IFN 応答抑制活性を比較した。

■ 結果および考察

細胞融合アッセイの結果、BPIV3 は株により細胞融合活性が異なり、特に遺伝子型 A に属するウイルスでその差が顕著であることが明らかとなった。HN 及び F タンパク質を用いた細胞融合アッセイにおいて、本研究で構築した組換えタンパク質では細胞融合を引き起こすことができず、融合活性を評価できなかった。P、V、D、及び C タンパク質を用いた IFN 応答測定レポーターアッセイでは、V タンパク質を発現させた細胞のみが対照サンプルと比較して低いルシフェラーゼ活性を示し、V タンパク質による IFN 応答抑制効果が認められた。しかしながら、各臨床分離株に由来する V タンパク質は全て同程度の IFN 応答抑制効果を示し、株による違いは認められなかった。

以上の結果から、本研究では培養細胞における増殖性や IFN 応答及びアポトーシス誘導能に加えて、感染細胞の融合活性も臨床分離株の性状を比較するうえでの有用な指標となり得ることが示された。また、臨床分離株間で V タンパク質による IFN 応答抑制効果に差が認められなかったことから、昨年度の研究で特殊な IFN 応答誘導能を示した株は、V タンパク質による IFN 応答抑制効果が働いている状況下であっても、他の株にはない自然免疫を強く誘導する未知の因子を持つことが示唆された。

■ 結語

BRDC の発症には、BPIV3 をはじめ様々な病原体が関与するほか、発症にかかわる病態機構が十分に明らかになっていないこともあり、その流行を完全に制御することができていない。したがって、BRDC による被害を軽減するためには、野外に流行するウイルスの性状解析を通じてその病態機構を明らかにするとともに、より有効なワクチン開発に向けた基盤的知見を蓄積する必要がある。本研究で得られた知見は、今後の BRDC 対策を発展させるための一助となることが期待される。