

ウイルス増殖レベルの人工操作による 新規牛パラミクソウイルス感染症ワクチン開発

鹿児島大学共同獣医学部附属越境性動物疾病制御研究センター・准教授 松本 祐介

■ 目的

パラミクソウイルス科にはゲノム塩基数が6の倍数でなければ複製が成立しない“6の法則(Rule of Six)”が存在する。我々は組換ウイルス作製によって人工的にRule of Sixに従わない状態に改変できることを見出した。この組換えウイルスは増殖効率が低下し弱毒化されるが、細胞内で6の倍数では無い異常RNAを產生し宿主免疫を強く誘導するという理想的なワクチンとなる。今回、牛パラミクソウイルスである牛パラインフルエンザウイルス3型(BPIV3)をRule of Sixに従わない状態にしてワクチン化するため、Rule of Sixの意義について研究を進めた。

■ 方 法

本研究ではBPIV3のRule of Sixの意義について解析を行い、その性質を他のパラミクソウイルスと比較する目的でニューカッスルウイルス(ndv)を用いた。まず、BPIV3およびndvのゲノム複製およびゲノムの塩基数が変わりうる現象「RNA editing」活性を評価するため、ホタルルシフェラーゼ(Fluc)とナノルシフェラーゼ(Nluc)の2種類の遺伝子をコードするミニゲノム系を確立した。さらにFluc-Nluc発現ミニゲノムプラスミドにRNA editingが起こるよう配列を改変した。Fluc遺伝子側に「RNA editing配列」を導入し、人為的にRNA editingを誘発できる「edit0」を構築した。さらに、このedit0配列中のFluc配列から1塩基を消失させ読み枠をずらした「edit1」を作製した。mRNA転写時にGが1塩基挿入されると読み枠が正しく戻りFlucが発現するミニゲノム(edit+1)となるようにデザインした。ルシフェラーゼアッセイの結果得られた数値に関して、Nlucの値をコントロールとして用い、Fluc/Nluc比を算出した。edit0時のFluc/Nluc比を100とし、edit+1時のFluc/Nluc比を百分率で比較することでRNA editing効率を求めた。

■ 結果および考察

BPIV3とndvではRNA editing効率が異なることが明らかとなった。ゲノム塩基数が6の倍数ある時と、6の倍数でない時のBPIV3およびndvミニゲノムを作製し、そのRNA editing効率を比較した。BPIV3ではゲノムが6の倍数でない場合にRNA editing効率が上昇することがわかった。これは、RNA editingによって生成されるV蛋白質の割合が増加し、逆にP蛋白質の割合が減少していることを示唆する。一方、ndvにおいて、ゲノムが6の倍数でない場合のRNA editing効率はむしろ低下することが示された。すなわち、V蛋白質の產生が減少し、P蛋白質の產生が増加することを意味する。

■ 結 語

本研究では、オルソパラミクソウイルス亜科に属するBPIV3ではゲノムが6の法則に従わない場合にRNA editing効率が高まる一方、エイブラウイルス亜科に属するndvでは逆にRNA editing効率が低下することを示した。BPIV3のようにRNA editingが亢進するとV蛋白質の产生が増加し、P蛋白質(ポリメラーゼ活性に必須)の产生が相対的に減少するため、ウイルス増殖には不利に働く可能性が考えられる。一方、ndvでは6の法則を外れるとRNA editingが抑制され、V蛋白質の産出が減少するため、宿主免疫応答を制御しにくくなる可能性がある。