学 位 論 文 題 名

Morphogenesis of Influenza and Ebola Virus Particles

（インフルエンザおよびエボラウイルスの粒子形成）

学位論文内容の要旨

ウイルスの増殖環において、アセンブリーと出芽はウイルス粒子形成へとつながる重要な工程である。これらの過程でウイルスは、ウイルス蛋白質やゲノム間の相互作用だけでなく、宿主細胞因子を利用することにより、効率よくウイルス粒子の産生を行う。これまでに、多くのウイルスのアセンブリーおよび出芽過程が研究されてきたが、その詳細は明らかにされていなかった。本論分では、エボラウイルスおよびインフルエンザウイルスの粒子形成過程を明らかにするため、それらのアセンブリー並びに出芽過程に焦点を置き、微細形態学的解析を行った。

初めにエボラウイルスの粒子形成機構の解析を行った。マトリックス蛋白質 VP40 の単独発現によりフィラメント状粒子が形成され、細胞表面から放出されることがわかった。また表面糖蛋白質 GP との共発現により、エボラウイルス様粒子が形成されることが明らかになった。

次に、核蛋白質 NP、マイナーマトリックス蛋白質 VP24、ポリメラーゼ補因子 VP35 の共発現により形成されるヌクレオカプシド様構造物の解析を行った。電子顕微鏡トモグラフィ法による立体構造解析から、エボラウイルスのヌクレオカプシド様構造物は、他のモノネガウイルス目ウイルスと同様に、左巻きの螺旋構造をとることが明らかになった。今度は、ヌクレオカプシド様構造物の形成機構の解析を行った。その結果、NP がヌクレオカプシド様構造物形成のコアとなるチューブ構造をとり、それらに対して VP24 と VP35 が相互作用することによりヌクレオカプシド様構造物を形成することが明らかになった。次にどのウイルス蛋白質が細胞膜表面への輸送に関わるかを調べたところ、VP40 が必要であることがわかった。また VP40 は、膜表面への輸送だけでなく、ヌクレオカプシド様構造物をウイルス様粒子に取り込む役割を担うことも明らかになった。また、この輸送の過程には、宿主細胞の微小管が関与していることが示唆された。

今度は、フィラメント状エボラウイルス粒子の出芽様式を明らかにするため

に、ウイルス感染細胞の形態学的解析を行った。エボラウイルスの出芽には、細胞膜表面と平行に出芽する水平型と、細胞膜表面と垂直に出芽する垂直型の二通りの様式が存在することが明らかになった。また、ヌクレオカプシドを含む感染性粒子は、主に水平型で出芽することが明らかになった。

最後に、分節化ゲノムを持つインフルエンザウイルスの、ゲノム取り込み機構を明らかにするために、出芽ウイルスの解析を行った。超薄切片による観察から、長さの異なる8本のRNP複合体が特徴的な配置をとり、個々のウイルス粒子内に取り込まれることが明らかになった。また電子顕微鏡トモグラフィ法から、RNP複合体間の相互作用が存在することが示唆された。

以上の結果は、エボラウイルスやインフルエンザウイルスだけに留まらず、他のエンベロープウイルスの増殖機構を明らかにする上でも重要な知見であると考えられる。今後、これらの過程の更なる解析により、ウイルス増殖に関わる宿主因子の理解が深まり、宿主細胞機構の解析が発展することも期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜 田 宏
副 査 教 授 梅 村 孝 司
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 教 授 高 島 郁 夫

学 位 論 文 題 名

Morphogenesis of Influenza and Ebola Virus Particles

(インフルエンザおよびエボラウイルスの粒子形成)

ウイルスの増殖環において、アセンブリーと出芽はウイルスの粒子形成に直接つながる重要な工程である。本論文では、エボラウイルスおよびインフルエンザウイルスの粒子形成過程を明らかにするため、それらのアセンブリー並びに出芽過程に焦点を置き、形態学的解析を行った。

エボラウイルスの解析では、マトリックス蛋白質 VP40 の単独発現によりフィラメント状粒子が形成され、細胞表面から放出されることがわかった。また表面糖蛋白質 GP との共発現により、エボラウイルス様粒子が形成されることが明らかになった。次に、ヌクレオカプシド様構造物の形成機構を解析した。核蛋白質 NP がヌクレオカプシド様構造物形成のコアとなるチューブ構造を形成し、それがマイナーマトリックス蛋白質 VP24 とポリメラーゼ補因子 VP35 とともに、ヌクレオカプシド様構造物を形成することが明らかになった。この構造物は、電子顕微鏡トモグラフィー法による立体構造解析から、他のモノネガウイルス目ウイルスと同様に、左巻きの螺旋構造をとることが明らかになった。NP、VP24、VP35 とともに VP40 を発現させると、ヌクレオカプシド様構造物が細胞表面に輸送され、さらにヌクレオカプシド様構造物をウイルス様粒子内に取り込むことが明らかになった。また、この細胞表面への輸送過程には、宿主細胞の微小管が関与していることが示唆された。次に、感染性エボラウイルスを用いて、出芽様式の解析を行った。その結果、細胞膜表面に平行に出芽する水平型と、細胞膜表面と垂直に出芽する垂直型の二通りの様式が存在することが明らかになった。また、ヌクレオカプシドを含む感染性粒子は、主に水平型で出芽することが明らかになった。

最後に、分節ゲノムを持つインフルエンザウイルスの、ゲノム取り込み機構を明らかにするために、出芽ウイルスの解析を行った。超薄切片による観察から、長さの異なる 8 本の RNP 複合体が特徴的な配置をとり、個々のウイルス粒子内に取り込まれることが明らかになった。また電子顕微鏡トモグラフィー法から、RNP 複合体間で相互作用することが示唆された。

本研究は、エボラウイルスやインフルエンザウイルスだけに留まらず、他のエンベロープ

ウイルスの増殖機構を明らかにする上で重要な知見を提供した。よって審査員一同は、申請者が博士（獣医学）の学位を受ける資格を有するものと認めた。