

# Mpingabo Ilunga Patrick

## 論文内容の要旨

主 論 文

Analysis of cell type-dependence on the arenavirus Z-mediated virus-like particle production

アレナウイルスZタンパク質により形成されるウイルス様粒子の産生における細胞種依存性の解析

Patrick Ilunga Mpingabo, 浦田秀造, 安田二郎

Frontiers in Microbiology; 11:562814

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：安田二郎教授)

緒 言

アレナウイルスはマイナス鎖 RNA ウイルスであり、ラッサウイルスなどヒトに重篤な出血熱を引き起こすウイルス種も含む。そのため、抗アレナウイルス薬の開発は喫緊の課題となっているが、アレナウイルスの宿主および細胞種特異的な病原性に関する分子生物学的な基礎情報は未だに十分であるとは言えない。アレナウイルスのマトリクスタンパク質である Z は単独発現でウイルス様粒子を形成し、細胞外に放出される。そのため、アレナウイルスの出芽機構を解析する手法として用いられている。ウイルス増殖の細胞特異性はレセプター以外の要因によっても決定されていることが知られており、出芽過程においても細胞種特異性が規定されている可能性がある。そこで本研究では、アレナウイルスの細胞種特異的な出芽機構を解析するために、様々なアレナウイルス種の Z タンパク質発現により形成・産生されるウイルス様粒子の産生効率を定量的に検証した。さらに申請者は、ウイルス様粒子の産生に重要な宿主因子である ESCRT 複合体と結合する Z タンパク質の L-ドメインの機能についても検証した。

対象と方法

6 種のアレナウイルス（フニンウイルス、マチュポウイルス、タカリベウイルス、

ラティノウイルス、ピチンデウイルス、およびラッサウイルス) の Z タンパク質をそれぞれ 6 種類の異なる培養細胞に発現させ、産生されたウイルス様粒子をウエスタンブロット法により定量した。使用した培養細胞は、ヒト腎臓由来 HEK293T 細胞、ヒト肝癌由来 Huh-7 細胞、ヒト肺胞上皮由来 A549 細胞、アフリカミドリザル腎臓由来 Vero76 細胞、ハムスター腎臓由来 BHK-21 細胞、マウス線維芽細胞由来 NIH3T3 細胞である。また、L-ドメインに変異を導入した Z タンパク質を発現させることで、L-ドメインがウイルス様粒子産生に及ぼす影響についてウエスタンブロット法により解析した。Z タンパク質発現プラスミドは J. C. de la Torre 博士 (The Scripps Research Institute) から提供を受けた。L-ドメイン変異 Z タンパク質発現プラスミドは KOD plus mutagenesis kit (Toyobo) を用いて作製した。

## 結 果

アレナウイルスの Z タンパク質発現によるウイルス様粒子産生は、フニン、マチュポ、ラッサウイルスにおいてはどの細胞においても効率よく産生されたが、タカリベ、ラティノ、ピチンデウイルスにおいては細胞種依存性に産生効率が大きく変化した。また、L-ドメインに変異を持つ Z タンパク質発現によるウイルス様粒子産生効率を評価したところ、各ウイルスとも細胞種依存性に産生効率が大きく減少した。試験した各ウイルスの間でまったく同様の細胞種依存性を示すウイルスはなく、各ウイルス特異的な細胞種依存性を示すことが明らかになった。

## 考 察

本研究で、アレナウイルスの Z タンパク質によるウイルス様粒子産生効率は細胞種依存性であることが明らかになった。さらに、L-ドメイン変異 Z タンパク質を用いたウイルス様粒子の産生効率も細胞種依存性であることが明らかになった。この結果から、各アレナウイルスはそれぞれ異なるウイルス様粒子産生機構を有することが示唆された。Z タンパク質の L-ドメイン変異による影響も各ウイルスで異なることから、L-ドメインに結合する宿主因子も各ウイルスによって異なることが示唆された。以上の結果は、生体内におけるアレナウイルスの細胞向性にも関係している可能性があり、ヒト病原性アレナウイルスに対する薬剤開発に必要な基礎情報を提供するものである。今後さらに、各ウイルスの各種細胞における増殖・出芽機構の解析が進むものと期待される。