

論文審査の結果の要旨

氏名 中津 寿実保

本論文は 2 章からなり、第 1 章は異なる型・株におけるインフルエンザウイルス粒子内へのゲノムの取り込み、第 2 章は A 型インフルエンザウイルスにおけるゲノムの規則的な配置での取り込みについて述べられている。

第一章 異なる株・型のインフルエンザウイルスにおけるウイルス粒子内への RNP の取り込み

本章では、A 型臨床分離株および異なる型のインフルエンザウイルスのウイルス粒子内に、RNP がどのように取り込まれるのかが電子顕微鏡法により解析された。実験には、A 型および B 型ウイルスの実験室株および臨床分離株と、C 型および D 型ウイルスが用いられた。

超薄切片法により、感染細胞から出芽するウイルス粒子の横断面に認められた RNP の形状と本数を計測したところ、解析した全ての A 型および B 型株のウイルス粒子内に「7+1」配置で取り込まれた 8 本の RNP が認められた。7 分節のゲノムを持つ C 型および D 型ウイルスでは、ウイルス粒子内に「6+1」配置をとった 7 本の RNP が認められた。電子線トモグラフィ法を用いて、A 型および B 型ウイルスの実験室株および臨床分離株のウイルス粒子内に取り込まれた RNP の配置と本数を比較したところ、A 型臨床分離株、B 型ウイルスでは一部のウイルス粒子が 7 本以下の RNP を取り込むものの、解析した全てのウイルス株において 80%以上のウイルス粒子が 8 本の RNP を「7+1」配置で取り込んでいることが明らかになった。

以上の結果から、A 型および B 型インフルエンザウイルスは、株によらず、ほとんどのウイルス粒子が 8 本の RNP を「7+1」配置で取り込むことが示唆された。さらに、超薄切片法の結果より、C 型および D 型ウイルスでも、RNP が「6+1」の

配置を取って取り込まれることが示唆されたことから、インフルエンザウイルスは株や型によらず、中心の 1 本の RNP を残りの RNP が囲むような「n+1」配置で RNP を取り込む可能性が示された。

これらの結果から、インフルエンザウイルスの効率的な増殖において、RNP が「n+1」配置でウイルス粒子内に取り込まれることが重要であることが予想される。そこで次に第二章において、A 型インフルエンザウイルスの増殖における RNP の「7+1」配置の重要性が検証された。

第二章 A 型インフルエンザウイルスにおける RNP の「7+1」配置の重要性の検証

本章では、RNP の「7+1」配置の重要性を検証するため、増殖に必要な RNA 分節を一本欠損した 7 分節の変異 A 型インフルエンザウイルスが作製され、これらのウイルスに RNP がどのように取り込まれるのかが解析された。

実験では 7 分節ウイルスとして、HA 分節を欠いた HA(-)ウイルスと、NA 分節を欠いた NA(-)ウイルスがリバーシジェネティクス法により作出された。その後、それぞれのウイルス粒子が電子線トモグラフィー法により解析された結果、7 分節ウイルスも野生型ウイルスと同様に、ウイルス粒子内に 8 本の RNP を「7+1」配置で取り込むことが明らかになった。HA(-)ウイルスに取り込まれた RNP の本数の割合を解析したところ、HA(-)ウイルスにおいてもほとんどのウイルス粒子に 8 本の RNP が規則的配置で取り込まれていた。以上の結果から、A 型インフルエンザウイルスのゲノムパッケージングにおける RNP の「7+1」配置の重要性が示唆された。

同様に、PB2 分節を欠いた PB2(-)ウイルスの作出も試みられたが、電子顕微鏡での観察に十分なウイルス力価が得られなかった。そこで、PB2 分節のコード領域の一部を欠損させた PB2 internal deletion (ID)分節を有する PB2 ID ウイルスを作出し、PB2 発現細胞に感染させて電子線トモグラフィーを行った。その結果、PB2 ID ウイルスでは 8 本の RNP の取り込み効率が野生型よりも低下していた。一方、HA 分節のコード領域の一部を欠損させた HA ID 分節を有する HA ID ウイルスでは、8 本の RNP を取り込む効率が PB2 ID ウイルスほど低下していなかった。本論文の結果から、HA 分節および NA 分節と比較して、PB2 分節がより「7+1」配置での取り込みに重要であることが示唆された。

以上、第一章と第二章の結果から、インフルエンザウイルスの効率的な増殖には、ウイルス粒子内に RNP が「n+1」配置を取って取り込まれることが重要であることが示唆された。さらに、A 型インフルエンザウイルスは、増殖に必須の分節数に依らず、8 本の RNP を「7+1」配置で取り込むこと、さらに、その取り込みには、特に PB2 分節が重要な役割を果たしていることが示唆された。

なお、本論文第 1 章は、相良洋、坂井-田川優子、菅谷憲夫、野田岳志、河岡義裕との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(医科学)の学位を授与できると認める。

以上 1875 字