



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ロタウイルス非構造蛋白のエンテロトキシン分子の
特定とその下痢防御への利用

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 源, 宣之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/645

ロタウイルス非構造蛋白のエンテロトキシン分子の特定と
その下痢防御への利用

はしがき

ロタウイルスは、ヒトや動物に重篤な下痢を起こす。世界ではロタウイルス感染症により、毎年数百万の乳幼児が死亡しており、家畜の経済的損出も計り知れない。下痢の誘発にはロタウイルスの非構造蛋白質、NSP4の関与が強く示唆されている。しかし、ロタウイルスは多様な血清型を保有していることから有効なワクチンの開発が難しい。NSP4はその中にエンテロトキシン分子を保持していると言われており、この分子は宿主の由来にかかわらず全てのロタウイルス株で共通して保持している可能性が高い。したがって、そのエンテロトキシン分子を特定することは、ロタウイルス感染症共通の下痢予防ワクチンの開発に貢献することになる。また、下痢発現機序の解明は治療薬の開発にも繋がる。そこで、本研究では主にNSP4のエンテロトキシン活性に焦点を絞り、ロタウイルス感染症の発生機序の解明を行った。なお、本研究では当研究室でハトから分離したトリロタウイルス、PO-13株を主に用いた。PO-13株は各種生物および遺伝性状が明らかになっていること、そのNSP4のアミノ酸配列が他のロタウイルス株のそれと大きく異なっていることにより、ロタウイルス共通のエンテロトキシン分子を容易に特定できると考えたからである。

まず、哺乳マウスを用いてロタウイルス感染により下痢を発現する動物モデルの確立を試みた。その結果、哺乳マウスはPO-13株の経口投与により、投与量及び日齢に依存して下痢を起こした。しかし、他のトリロタウイルスでは発病しなかった。発病マウスの腸管上皮細胞での病変とウイルス抗原の分布が一致せず、NSP4の関与が示唆された（**学術論文2**；**口頭発表2, 8**）。マウスに下痢を発現するウイルス株と発現しない株からの大腸菌発現NSP4の下痢原性を調べてところ、いずれのNSP4も哺乳マウスに下痢を発現し、ウイルスの病原性の有無にかかわらず、NSP4はエンテロトキシン活性を保持していることが明らかとなった。各種欠損NSP4の下痢原性から、NSP4のエンテロトキシン活性部位がアミノ酸109-135位の領域に存在することを確認した（**学術論文4**）。PO-13株と他のロタウイルスとのNSP4のアミノ酸配列の相同率は33-37%であったが、エンテロトキシン部位は50-59%と高い値を示した（**学術論文1, 5**）。さらに、下痢発現の有無を分節遺伝子交換ロタウイルスを作製して検討したところ、NSP4とは別にウイルス外殻蛋白質の胃あるいは腸管での抵抗性が病原性に大きく関わっていることを明らかにした（**学術論文11**；**口頭発表3, 5**）。また、ロタウイルスの下痢発現機

構を解明するために、腸管侵入性細菌のLSPで誘導される酸化窒素(NO)がNSP4によっても誘導されるかを検討したところ、少なくとも発現NSP4を感作された腸管マクロファージ細胞はNOを誘導し、その誘導はNSP4抗体で抑制された(学術論文17口頭発表9.14)。

つぎに、NSP4のロタウイルス共通ワクチン抗原としての可能性を探るために、NSP4に対するモノクローナル抗体を作製し、NSP4の抗原性状を調べた。その結果、NSP4は4つの抗原領域と6つのエピトープからなることを確認した。なかでもアミノ酸136-150位の抗原領域は多くのロタウイルスで保存されており、ワクチン物質として応用出来る可能性を示した(学術論文10;口頭発表4.7)。

以上の如く、本研究課題で当初提案した多くの目的を達成することが出来た。しかし、ロタウイルス感染に伴う下痢を防御する手段にNSP4を利用する最終目標にはまだ多くの問題を残している。本研究で、最終目標を解決するための多くの基礎的情報が得られたので、さらに本研究を継続して行うことを強く希望する。

そこで、これまでに得られた新知見をもとに作成した学術論文等を本報告書にまとめ、それらを参考にして、引き続き検討すべき多くの課題の解決に当たりたい。なお、本研究の実施中に得られた関連論文も併せて報告書に掲載した。本研究を遂行するに当たり、私共あるいは他の講座の教官、大学院生および学部学生諸君のご協力を頂いた。心から謝意を表したい。

最後に、科学研究費の補助を受けて本研究が実施され、かつこの研究成果報告書をまとめることが出来たことに対して、文部科学省および日本学術振興会をはじめ関係各位に深く感謝申し上げる。