

京都大学	博士 (医学)	氏名	宮本 翔
論文題目	<i>In vitro</i> vRNA-vRNA interactions in the H1N1 influenza A virus genome (インフルエンザウイルスのゲノム分節間相互作用の解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>A 型インフルエンザウイルスは、時として世界的な大流行 (パンデミック) を起こし、人類社会に甚大な被害をもたらしてきた。1918 年に流行したスペイン風邪 (H1N1) は世界各地で猛威をふるい、全世界で 6 億人が罹患し、死者は 4000 万人にのぼったと推定される。パンデミックウイルスは季節性ウイルスとして定着し、世界中で流行を繰り返している。パンデミックウイルス出現機構の解明は、新型インフルエンザウイルス出現の予測に必須である。</p> <p>パンデミックウイルスの出現には、異なるウイルス株間の遺伝子交雑が不可欠となる。この遺伝子交雑にはウイルス粒子へのゲノム取り込み (ゲノムパッケージング) 機構が関与すると考えられている。インフルエンザウイルスは 8 分節化したマイナス一本鎖のゲノム RNA (vRNA) をもつ。それぞれの vRNA は両末端に存在する非翻訳領域と、それに挟まれた翻訳領域で構成されている。また、vRNA の両末端の非翻訳領域から翻訳領域にかけての領域には分節間で異なるパッケージングシグナル配列が存在し、この配列が vRNA のウイルス粒子への取り込みに必須であることが知られている。ウイルス出芽過程においては、一つの子孫ウイルス粒子に 8 種類の異なる vRNA が選択的に取り込まれる選択的ゲノムパッケージングが行われていることも明らかになっている。一方、近年の研究では、vRNA 間の相互作用が選択的ゲノムパッケージングに関与していることが報告されている。しかし、ゲノムパッケージングに重要であるパッケージングシグナル配列が vRNA 間相互作用にどのように関与しているのかは未解明のままである。</p> <p>本研究では、ヒトで流行している H1N1 亜型の実験室株 (A/WSN/1933) の全長およびパッケージングシグナル領域の vRNA を <i>in vitro</i> 合成し、ゲルシフトアッセイを用いて <i>in vitro</i> 環境下における vRNA 間相互作用の解析を行った。8 種類の vRNA 間の組み合わせ全 28 ペアのうち、15 ペアで vRNA 間相互作用が認められた。これらのうち、13 ペアで 3'末端もしくは 5'末端パッケージングシグナル領域を介した RNA 間相互作用が存在することが明らかとなった。興味深いことに 8 種類の vRNA はいずれも複数の vRNA と相互作用していた。また、3'末端と 5'末端のパッケージングシグナル領域でそれぞれが異なる vRNA と相互作用する例も認められた。この結果は 3'末端と 5'末端のパッケージングシグナルがそれぞれ異なる vRNA と相互作用することで、8 種類の vRNA が集合した超複合体を形成する可能性を示した。</p>			

本研究は、H1N1 亜型のインフルエンザウイルスが *in vitro* においてどの vRNA と vRNA が相互作用するのかを示したはじめての報告である。これはパンデミックウイルスが出現する際、すなわちヒトが免疫を持たない新たな亜型のウイルス抗原 (HA タンパク質など) vRNA が遺伝子交雑で取り込まれる際に、どの vRNA との相互作用が重要であるのかを明らかにし、パンデミックを引き起こす可能性のある新型インフルエンザウイルス株を予測するうえで大きな手がかりとなる。また、全長の vRNA 間相互作用の多くでパッケージングシグナル間の相互作用が認められたことから、vRNA 間相互作用におけるパッケージングシグナルの重要性が示唆された。パッケージングシグナル配列は vRNA 間相互作用を促し、8 本の vRNA からなる超複合体を形成させることで選択的ゲノムパッケージングに貢献すると考えられた。したがって、これらの *in vitro* 環境下で得られた結果は、感染細胞内のゲノムパッケージング過程で起こる vRNA 間相互作用の解明に寄与し、選択的ゲノムパッケージングを通じたパンデミックウイルス出現機構の理解につながることを期待される。

(論文審査の結果の要旨)

A 型インフルエンザウイルスは 8 本に分節化された RNA をゲノムとして持つ。これまでの研究から、各 RNA 分節に特異的なゲノムパッケージングシグナル配列を介して、8 種類の RNA 分節が選択的に子孫ウイルス粒子内に取り込まれることが明らかにされてきたが、その詳細な分子機構は明らかにされていなかった。本研究では、ヒトで流行する H1N1 亜型の A 型ウイルスをモデルとして、ゲルシフトアッセイにより各ゲノム RNA 分節間の相互作用を解析した。8 種類のゲノム RNA 分節を *in vitro* で合成し、それらの組み合わせ全 28 ペアのうち、15 ペアでゲノム分節間相互作用が認められた。これらのうち、13 ペアでゲノムパッケージングシグナル領域を介した相互作用が確認された。各 RNA 分節は、いずれも複数のゲノム RNA 分節と相互作用していた。以上の結果から、8 分節のゲノム RNA はゲノムパッケージングシグナルを介して特異的に相互作用すること、また、そのような特異的な相互作用が 8 種類の RNA 分節を選択的に取り込む際に重要であることが示唆された。以上の研究は、インフルエンザウイルスの細胞内増殖機構の一端を明らかにしただけでなく、遺伝子再集合を介した新型インフルエンザウイルス出現機構の理解にも貢献し、ウイルス学研究所の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 2 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降