

【目的】アレナウイルス科にはヒトに致死的なウイルス性出血熱を引き起こす病原体が複数存在し、それぞれの流行地域で公衆衛生上の重要な問題となっている。特にラッサ熱を引き起こすラッサウイルスは最も人類への影響が大きく、西アフリカで毎年数十万人の患者とおよそ 5 千人の死者を出している。重要なヒトの感染症でありながら確立された治療法や予防法のないラッサ熱は Blueprint Priority Diseases (WHO) に指定されており、その対策は世界的な課題である。我々は先行研究において、ラッサウイルスの治療標的となり得る宿主細胞因子を同定するため、ラッサウイルスと近縁のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) ノックアウト (NP) のインタラクトーム解析を行った。この研究では NP と特異的に結合する 171 個の宿主因子を同定し、その中の ATP1A1 (Na^+/K^+ -ATPase) が LCMV だけでなく、ラッサウイルスやアルゼンチン出血熱を引き起こすフニンウイルスの増殖にも利用されている因子であることが明らかとなった。本研究では、先の研究で同定された NP 結合宿主タンパク質のうち、ATP1A1 以外の分子の、LCMV 増殖における役割を解析した。

【方法】先行研究で同定した NP 結合タンパク質のうち、LCMV 増殖に寄与する候補宿主因子として CCT2、TAGLN2、RBM14 に着目し、それぞれの遺伝子ノックアウト (KO) 細胞を作出した。それら KO 細胞にレポーター遺伝子 *ZsGreen* (ZsG) を発現する組換え LCMV (rLCMV-ZsG) を感染させ、培養上清中のウイルス力価を測定した。次に、候補宿主因子の LCMV 増殖における役割を明らかにするため、KO 細胞で rLCMV-ZsG を連続継代し、増殖が抑制されない変異株の出現をモニターした。得られた変異株のゲノム配列を解析し、変異を同定した。該当の変異をあらかじめ導入した rLCMV をリバーシジェネティクス系により作製し、KO 細胞での増殖効率を解析した。

【結果】TAGLN2 に関しては KO 効率の良い細胞を作出することができたが、CCT2 及び RBM14 に関しては KO の効率が不十分であったため、TAGLN2 に関してさらなる解析を進めた。TAGLN2KO A549 (A549/TG2-KO) 細胞では、rLCMV-ZsG の増殖が著しく減弱していた (図 A~C)。rLCMV-ZsG を A549/TG2-KO で連続継代したところ、3 ないし 4 継代目には増殖がコントロール細胞と同程度まで回復し、変異株の出現が疑われた。そこで、感染細胞からトータル RNA を抽出し、ウイルス遺伝子のうち、NP、糖タンパク質前駆体 (GPC)、マトリックスタンパク質 (Z) 遺伝子の配列を解析した。その結果、GPC 遺伝子に一つのアミノ酸変異 (F129I) を同定した。GPC (F129I) 変異をあらかじめ持つ rLCMV-ZsG [rLCMV-ZsG (GPC/F129I)] を作製し、A549/TG2-KO に感染させたところ、ウイルス力価はコントロール細胞に感染させた場合と同程度であった。

TAGLN2 ノックアウト細胞では rLCMV-ZsG 増殖が抑制される

