

【目的】 背景 : Respiratory Syncytial Virus (RSV) は、下気道炎を呈する呼吸器感染性ウイルスで生後 2 歳までにほぼ 100% の乳幼児が感染するが、RSV 感染の重症化、喘鳴の遷延、気管支喘息の発症・増悪への関与に対して、現在有効な予測因子や予防・治療法は確立されていない。オートファジーは細胞内における代表的な分解機構の一つであり、不要なタンパク質・小器官を分解することで細胞の恒常性を保つが、いくつかのウイルスにおいては複製に利用されることが報告されている。本研究に先駆けて研究代表者は、RSV はオートファジーを誘導し、オートリソソームに関連する因子を阻害すると複製が阻害されることを見出していたが、その分子機構の詳細及びオートリソソームの形成阻害が新規治療薬の開発の候補となるかは不明であった。本研究の目的は、RSV によるオートファジー誘導機構の詳細と、オートリソソームの形成と RSV 複製機構との関連性を明らかにし、これらの経路が新規治療薬開発の候補となりうるかを精査することである。

【方法】 オートファジー関連因子の knock down (KD) 細胞および knock out (KO) 細胞を作製し、RSV 感染 24 時間後、上清中のウイルス力価、ウイルス粒子に含まれるウイルスタンパク質を測定した。また、Gaussia luciferase の分泌能を測定した。表面に分泌されたタンパク質は、ビオチン修飾後、アビジン沈降を行い western blotting で検出した。

【結果】 RNA ウイルスであるムンプスウイルスとパラインフルエンザ 2 型ウイルス及び RSV によるオートファジー誘導能を比較すると、これらの中で RSV 感染が最も強くオートファジーを誘導した。またオートリソソーム関連因子 syntaxin17 (STX17), SANP29, VAMP8 を KD すると、感染性 RSV の産生量や上清中に含まれるゲノム量が減少するのに対し、ムンプスウイルスでは確認されなかった。更に、放出されたウイルス粒子に含まれるウイルスタンパク質量を定量した結果、エンベロープタンパク質 G および F タンパク質や粒子内に内包される P および M タンパク質の顕著な減少を認めたのに対し、N タンパク質は変化しなかった。次に細胞内分解速度、分泌能の変化を検討した結果、STX17 と VAMP8 の KD において Gaussia luciferase の分泌能の低下が観察され、RSV の G および F タンパク質においても分泌能が著しく低下していた。しかしながら、KO 細胞においてはこれらの表現系が確認されなかった。以上の結果から、RSV の複製においてオートファジーは関与しないものと結論づけられたが、STX17 および VAMP8 の一時的な抑制は RSV 治療の戦略になりうる可能性があることを見出した。

本研究結果の概要図

