

【目的】 流行性耳下腺炎（ムンプス）は小児の代表的なウイルス性感染症で、耳下腺の腫脹・疼痛を主症状とし、加えて無菌性髄膜炎や精巣炎、難聴などの重篤な合併症を伴う疾患である。ムンプスの原因はパラミクソウイルスに分類されるムンプスウイルス（Mumps virus : MuV）である。飛沫を介して感染したウイルスは、ウイルス血症により全身の標的組織へと伝播し、ウイルス増殖に伴う局所的な炎症を引き起こす。MuV は他のパラミクソウイルスには見られない特徴的な組織指向性（耳下腺、中枢神経、膵臓、生殖器など）を示すが、それを規定するウイルスならびに宿主因子については明らかになっていない。パラミクソウイルス科ウイルスは呼吸器症状から全身症状まで多様な病態を引き起こすことが知られているが、多くのパラミクソウイルスの組織指向性ならびに感染病態は細胞侵入過程に規定されることが知られている。そこで本研究では、他のパラミクソウイルスと同様に、MuV 感染においても組織指向性および感染病態がウイルスの細胞侵入過程に規定されると仮定し、MuV の感染受容体の解析を通して、MuV の組織指向性の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法】 各種糖鎖を欠損した細胞または合成等を阻害する阻害剤を処理した細胞に AcGFP 発現の組換え MuV (rMuV/AcGFP) を感染させた。感染効率は蛍光顕微鏡による観察に加え、FACS による定量解析によって評価した。293T 細胞を用いて発現・精製した HN タンパク質を bait に糖鎖アレイスクリーニングを実施した。

【結果】 近年 MuV の受容体結合タンパク質である Hemagglutinin-neuraminidase (HN) タンパク質の X 線構造解析が行われ、HN タンパク質が α 2,3 結合型シアル酸を含む三糖構造と結合することが明らかになった。そこで MuV 感染におけるシアロ糖鎖の重要性について解析を行った。 α 2,3-Sialidase (0.2 U/mL) を用いて、細胞表面の α 2,3 結合型シアル酸を除去した HeLa 細胞に rMuV/AcGFP を感染させた。感染 24 時間後の細胞を蛍光顕微鏡によって観察した結果、未処理細胞と比較して、Sialidase 処理細胞における感染効率は約 1/20 に低下していた。次に α 2,3 結合型シアル酸が付加されるバックボーンについて検討を行った。N 型糖鎖および O 型糖鎖の合成に必須の MGAT1 および C1GalT1 をそれぞれ単独または両方ノックアウトした HeLa 細胞に rMuV/AcGFP を感染させた。その結果、N 型糖鎖を欠損させた HeLa 細胞において、有意に MuV の感染性が低下した。さらに N 型糖鎖および O 型糖鎖の合成を阻害する化合物を用いて検討した結果、N 型糖鎖合成阻害剤である 1-dMM 処理細胞において、有意に MuV の感染が抑制され、MuV の感染には O 型糖鎖よりも N 型糖鎖として付加されるシアロ糖鎖が重要であることが示された。MuV の感染受容体糖鎖に関して、さらに詳細な特徴を明らかにするために、HN タンパク質と相互作用する糖鎖種を、糖鎖アレイを用いて探索した。その結果、MuV の HN タンパク質はヘパラン硫酸およびヘパリンに対して強い親和性を有することが示された。そこで、ヘパラン硫酸を欠損させた HeLa 細胞を用いて、MuV の感染性を評価した結果、野生型 HeLa 細胞に比べて、ヘパラン硫酸を欠損した HeLa 細胞では MuV の感染性が有意に亢進した。すなわちヘパラン硫酸は MuV の感染受容体ではなく、HN タンパク質と結合することで感染阻害効果を有する因子であることが明らかとなった。

MuV 感染における N 型糖鎖の必要性

