

## 長期間派遣援助成果報告書

国立感染症研究所・ウイルス第2部 染谷雄一

研究題目：下痢症ウイルスによる下痢症発症の分子機構の解明

派遣期間：2003年6月16日～2005年12月15日

（当初は2003年6月16日～2005年6月15日の予定でしたが、半年間延長させていただきました）

研究機関名：カリフォルニア大学サンフランシスコ校

（アメリカ合衆国カリフォルニア州サンフランシスコ市）

研究指導者名：Lily Yeh Jan 教授（医学部生理学部門）

下痢症ウイルスのひとつであるノロウイルス（ノーウォーク様ウイルス）が小腸上皮細胞に感染した後、どのように下痢症を発症するかを分子レベルで明らかにすることを目的に2年半の間カリフォルニア大学サンフランシスコ校 Lily Jan 教授の研究室で研究を行った。この研究室は種々のイオンチャネルの構造・機能解析、細胞内輸送研究で数多くの論文を著名な雑誌に発表している。一般に下痢症は細胞膜を介したイオンや水分子の透過性の変化ととらえることができる。そこで、この研究の作業仮説として、（1）ウイルスタンパク質自身がイオン透過活性を有する、（2）ウイルスタンパク質が感染宿主細胞内でイオンチャネルやトランスポーターの活性を調節する、（3）ウイルスタンパク質がイオンチャネルやトランスポーターの細胞質膜への発現（細胞内輸送）を調節する、可能性を掲げた。

ノロウイルスは実験室レベルで感染可能なウイルスを複製する系（培養細胞、実験動物）がいまだ確立されておらず、詳細な研究を遂行する上で大きな障害となっている。ノロウイルスは宿主細胞内で数種類のタンパク質を発現させると考えられるが、それらが細胞内のどこに分布し機能するかは分かっていなか

った。このことはウイルスによる下痢症発症機構を解明する上でまず知っておくべきことと考え、初めにノロウイルスタンパク質の細胞内局在を明らかにすることにした。

ノロウイルスは6つの非構造タンパク質と2つの構造タンパク質を発現する。この研究では特に非構造タンパク質に着目し、それらの緑色蛍光タンパク質（GFP）融合タンパク質を発現する遺伝子を構築した。6種の非構造タンパク質のうち、2AB、2C と呼ばれるタンパク質が特に興味深い細胞内局在、すなわち、細胞内膜構造物への局在を示した。2AB タンパク質はゴルジ体にその多くが局在していた。一方、2C タンパク質は細胞内に多くの小胞状の膜構造を形成し、それらへの分布が認められた。この2C 小胞は小胞体やゴルジ体のマーカーと共存せず、どのようにしてこれらの小胞が形成されるのかは興味深い。

小胞体やゴルジ体など細胞内膜構造物は細胞膜タンパク質が生産され、成熟し、最終的に細胞質膜へ到達する過程で重要である。そこで、ノロウイルスの2AB や2C タンパク質が、ある種の細胞質膜タンパク質の細胞質膜への輸送を阻害している可能性を考えた。ノロウイルスの感染の場が小腸上皮細胞であることを考えると、水輸送に関わる膜タンパク質が影響を受けているのではないかと考えた。小腸ではNa-グルコース共輸送体（SGLT1）が主要な水輸送担体と考えられている。恐らくそのほかにアクアポリン（AQP）といった水チャネルが機能していると思われる。そこで、ノロウイルスの2AB あるいは2C タンパク質の発現に伴って、SGLT1 やAQPの分布が変化するかどうかを細胞の免疫染色で検出することを試みたが、優位な変化は見られなかった。ただ、この実験に使用した抗体（市販品）は品質的にあまり良くなく（低力価、高バックグラウンド）、優れた抗体を調製した上で検討の必要があると感じた。

私が海外に滞在したのは2年半という長いものであったが、実験を遂行する上でいくつか傷害にぶち当たり、当初の目的を達成するにはいたらなかった。しかし、今後この研究を続けていく上で何が必要かを知ることが出来たのは有意義であったと思う。