

H5N1 およびパンデミックウイルスの ウイルス学的解析

研究分担者 河岡義裕 東京大学医科学研究所・教授

研究要旨

近年、インフルエンザウイルスのオセルタミビル耐性変異として、NA 蛋白質の 117 番目のアミノ酸のイソロイシンからバリンへの変異が明らかになった。そこで、このアミノ酸変異を H5N1 ウイルスに導入し、in vitro、in vivo、in silico で解析した。その結果、117 番目のアミノ酸変異は、ウイルスとオセルタミビルとの結合親和力を弱め、生体内でのオセルタミビル感受性を低下させていることが明らかとなった。

A. 研究目的

抗インフルエンザ薬のオセルタミビルは、インフルエンザの治療に広く使われている。オセルタミビル耐性に関与するウイルス変異として、NA 蛋白質の 274 番目、292 番目のアミノ酸変異が知られているが、近年、117 番目のアミノ酸のイソロイシンからバリンへの変異もオセルタミビル耐性に関与することが明らかになってきた。しかし 117 番目のアミノ酸変異は、オセルタミビル治療中に出現したものではなく、家禽からの分離株で見つかったものであり、その耐性機序は不明な点が多い。そこで、117 番目のアミノ酸変異による耐性化のメカニズムを明らかにすることを目的とし、本研究を行った。

B. 研究方法

本研究では、遺伝的背景の異なる H5N1

ウイルス 3 株を用いた。

- ・ A/Vietnam/1203/2004
(VN1203, クレード 1)
- ・ A/duck/Vietnam/TY114/2007
(TY114, クレード 2.3.4)
- ・ A/Vietnam/UT31412II/2008
(VN31412, クレード 2.3.4)

各ウイルスの NA 蛋白質の 117 番目のアミノ酸を、イソロイシンからバリンに変えたウイルス (NA-I117V) を作製した。これらのウイルスの NA 酵素活性やオセルタミビル感受性を、in vitro、in vivo および in silico で、それぞれの親株と比較解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、東京大学医科学研究所実験動物委員会の承認のもと、東京大学動物実験規則に従って実施した。

情報は有用となる。

C . 研究結果および考察

in vitro において、NA-I117V 変異による NA 酵素活性は 3 株とも親株と比べ大きな変化はなかったが、オセルタミビル感受性は 1.3-6.3 倍と、わずかであるが低下した。

in vivo では、マウスにおけるオセルタミビル感受性試験により、VN1203 NA-I117V ウイルスと VN31412 NA-I117V ウイルスの 2 株で、親株に比べ感受性が低下した。

さらに、in silico では、分子動力学シミュレーションにより、NA-I117V の変異が NA 蛋白質の 118 番目のアルギニンと、オセルタミビルのカルボキシル基との水素結合を弱め、ウイルスとオセルタミビルの結合親和力の低下をもたらすことが示唆された。

これらの結果から、NA の 117 番目のアミノ酸変異は、オセルタミビルとウイルスの結合親和性を弱めることにより、生体内でのタミフル感受性を低下させていることが明らかとなった。

D . 結論

本研究により、H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの NA-I117V によるオセルタミビル耐性メカニズムの新たな知見が得られた。今後、H5N1 ウイルスに感染した患者を治療する際にも本研究で得られた

E . 研究発表

1 . 論文発表

Takano R, Kiso M, Igarashi M, Le MQ, Sekijima M, Ito K, Takada A, Kawaoaka Y. Molecular mechanisms underlying oseltamivir resistance mediated by an I117V substitution in the neuraminidase of subtype H5N1 avian influenza A viruses. J Infect Dis 207:89-97, 2013.

Sakabe S, Takano R, Nagamura-Inoue T, Yamashita N, Nidom CA, Quynh Le MT, Iwatsuki-Horimoto K, Kawoaka Y. Differences in cytokine production in human macrophages and in virulence in mice are attributable to the acidic polymerase protein of highly pathogenic influenza A virus subtype H5N1. J Infect Dis 207:262-271, 2013.

2 . 学会発表

該当なし

F . 知的所有権の取得状況

該当なし