



Title	Characterization of Sialic Acid-Independent Simian Rotavirus Mutants in Viral Infection and Pathogenesis
Author(s)	山崎, 萌子
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/92075">https://hdl.handle.net/11094/92075</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏 名 Name	山崎 萌子
論文題名 Title	Characterization of Sialic Acid-Independent Simian Rotavirus Mutants in Viral Infection and Pathogenesis (シアル酸非依存的サルロタウイルス変異体の感染性及び病原性の解析)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目 的(Purpose)〕</p> <p>ロタウイルスは11本の2本鎖RNAをゲノムとして持つウイルスであり、ウイルス粒子表面上に存在するスパイクタンパク質VP4が腸管内のトリプシンによりVP8*とVP5*に開裂し、VP8*が細胞表面の糖鎖が結合することで、宿主細胞に感染する。既報では、ヒトロタウイルスは組織血液型抗原(HBGA)、サルロタウイルスはシアル酸などの糖鎖に結合することが構造解析により明らかにされてきたが、ロタウイルス感染における糖鎖への結合が感染にどのように影響を与えているかについては明らかにされていない。そこで、本研究ではサルロタウイルスSA11株のVP4内のシアル酸結合部位に変異を加えた変異体を作製し、ロタウイルス感染における糖鎖結合の重要性について検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>ロタウイルスのリバースジェネティクス系を用いて、SA11株VP4内のシアル酸結合領域内のアミノ酸をアラニンに置換した変異体を作製し、シアル酸を切断するノイラミニダーゼを用いて、感染性への影響を確認した。ノイラミニダーゼ存在下では野生型の組換えSA11(rSA11)の感染性は著しく低下したのに対して、シアル酸結合部位に変異を加えたVP4変異体の感染性は変化しなかった。またサル腎由来MA104細胞における増殖性はすべての変異体で野生型rSA11よりも減少した。VP4変異体の中でシアル酸との結合力が強いアミノ酸R101に変異を加えた組換えウイルス(rSA11_R101A)と、最も増殖性が減少した3つの変異をVP4に加えた組換えウイルス(rSA11_R101A/VI43A/Y175A)を用いて、ヒト腸管由来HT29細胞におけるシアル酸欠損細胞での増殖性を評価した。VP4変異体では、コントロール細胞と比べてシアル酸欠損細胞における増殖性のほうが高かったことから、シアル酸非依存的な結合で宿主細胞に感染していることが示唆された。VP4変異体が結合している他の糖鎖を調べるため、ヒトロタウイルスの結合糖鎖であるHBGAに対する抗体を吸着させ、感染阻害を評価したところ、rSA11_R101AはH-type I HBGAに結合していることが示唆された。次に、<i>in vivo</i>におけるVP4変異体の病原性について評価するために3日齢のマウスに感染させ、下痢症状、体重変化、死亡率について解析した。VP4変異体を投与した群では野生型rSA11を投与した群と比較して、下痢症状が悪化し、体重増加は抑制され、死亡率は増加した。また、3週齢のマウスにおける感染実験では、野生型rSA11は腸管内ではほとんど検出されなかったのに対して、rSA11_R101Aは小腸、rSA11_R101A/VI43A/Y175Aは小腸および盲腸で検出された。小腸および盲腸内容物をそれぞれロタウイルスと混合し、37°C、1時間でインキュベートしたのちにMA104細胞に感染させ感染率を比較した。小腸内容物では感染性は半減したが、盲腸内容物では野生型rSA11は感染性が変化しなかったのに対して、VP4変異体では感染性が著しく上昇した。しかし、ペニシリンを投与し、腸内細菌を減少させたマウスの盲腸内容物では感染性は上昇しなかった。よって、VP4変異体は野生型rSA11と比較して<i>in vivo</i>では高病原性を示し、盲腸内細菌叢が感染性の増強に関与していることが示唆された。</p> <p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>シアル酸非依存的なVP4変異体の感染性は低下するものの完全には消失しないこと、シアル酸欠損細胞ではVP4変異体の増殖性が増加したことから、VP4変異体はH-type I HBGA等のシアル酸以外の受容体にも結合できることが示唆された。また、VP4変異体はシアル酸への結合能を失うことにより、腸内細菌叢などの影響を受けやすくなることで、<i>in vivo</i>において感染性や病原性が増強されると考えられた。以上の結果から、ロタウイルス感染時におけるVP4の糖鎖結合は<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>の両方で重要な役割を担っていることが示唆された。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 山崎萌子				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	小林 剛	三 名
	副 査	大阪大学教授	上田 啓次	三 名
	副 査	大阪大学教授	塩田 達也	三 名

## 論文審査の結果の要旨

ロタウイルスは、乳幼児に重篤な胃腸炎を引き起こすウイルスである。糖鎖の一つであるシアル酸はサルロタウイルスの主要な受容体であり、ウイルス吸着時にロタウイルスのスパイクタンパク質VP4と結合する。しかし、ロタウイルスの複製や病原性における糖鎖結合能の重要性は不明であった。そこで、最近開発されたロタウイルス遺伝子操作系を用いてシアル酸結合部位に変異を加えたサルロタウイルスの変異体を作製し解析を行った。

作製した変異体は培養細胞でシアル酸に結合できず、野生型ウイルスよりも増殖性は低下していた。これらの結果から、変異体の病原性は低下すると予想されたが、野生型ウイルスを投与したマウスと比較して、変異体を投与したマウスでは、腸管におけるウイルス量の増加、体重減少、下痢症状の悪化、死亡率の上昇が認められ、より高い病原性を示した。以上の結果より、サルロタウイルス感染におけるシアル酸との結合は複製および病態発現において重要な感染過程であることが明らかになった。

本論文では、今まで明らかにされなかった、ロタウイルス感染における糖鎖結合の重要性について示すものであり博士（医学）の学位授与に値する。