

女性研究者支援 研究助成 2018 – 感染症領域 –
研究成果報告書（公表用） <概要>

所 属	札幌医科大学耳鼻咽喉科兼微生物学講座
氏 名	小笠原 徳子
研 究 テーマ	RS ウイルス感染症に対する新規予防・治療戦略のための基礎研究

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

<研究目的> RS ウイルス (RSV) は病院外や統計に含まれない乳児死亡率にも強い影響を及ぼしているとされ、乳児期に必ず罹患する呼吸器感染性 RNA ウイルスである。治療を必要とするニーズが極めて高いが、現在有効な予防・治療法が確立されていない。そのようなアンメット・メディカル・ニーズに応えるために、本研究では **RSV 特異的宿主感染応答機構をウイルスのライフサイクルに基づいて詳細に解析し、現在開発が進んでいる分子標的・ワクチン治療を補完し得る RSV が増殖過程で利用している宿主因子を探索し、効果的なウイルス増殖抑制経路を見出すこと**を目的とする。

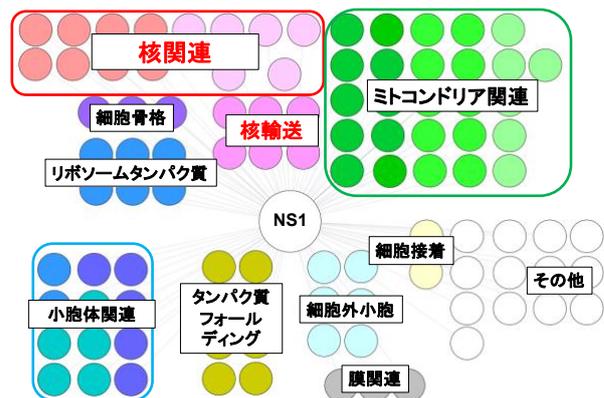
<研究手法 プロテオーム解析> RSV 構造タンパク質および非構造タンパク質をコードする遺伝子に peptide タグをつけて遺伝子合成し、得られた遺伝子をヒト培養上皮細胞に導入し、免疫共沈降法を用いて分離・精製し、ショットガン質量分析法を用いて宿主内で RSV と結合するタンパク質を網羅的に解析する。

<研究手法 機能解析> プロテオーム解析によって捉えられたタンパク質について、RSV 感染時に果たす役割をウイルス感染力価 (プラークアッセイ法)・サイトカイン産生能力 (ELISA 法・qPCR 法)・細胞内局在 (免疫染色法) を行い、解析・評価する。

<研究成果>

- 1) RSV のタンパク質をコードするすべての遺伝子(11 種類)について標識タグ付与しクローニングを終了した。
- 2) HEK293T・H1-HeLa 細胞に遺伝子導入を行い、免疫沈降法を用いて分離精製したサンプルに宿主結合タンパク質が存在するか銀染色にて確認した。
- 3) 最も明瞭な結果を得られた NS1 に着目し、ショットガン質量分析法を用いて網羅的に宿主結合タンパク質を抽出し、再現性を重視した MistScore を基盤としたバイオインフォマティクス解析を行い 98 の候補結合タンパク質を見出した (図 1)。
- 4) 候補結合タンパク質の中で、これまで NS1 の機能として知られていない核関連タンパク質に着目し、核内タンパク質と NS1 が結合することを WB 法にて確認した。
- 5) 核内タンパク質の遺伝子破壊細胞、それらの相補株を樹立し、RSV 感染時に果たす機能解析、結合領域の同定を進めている。
- 6) NS2, M, M2-1, M2-2 および G について同様の網羅的解析を行い候補結合タンパク質を見出した。

図1: RSV NS1結合宿主タンパク質マップ



<今後の展望>本研究で得られた成果についてまとめ、ウイルス学会で発表を予定し国際学術誌に投稿を行う。ウイルス感染に伴って機能を果たす宿主因子を同定し詳細に機能解析を行うことで、従来研究開発が進んでいるウイルス構造特異的治療薬やワクチンと異なり、薬剤・作用点耐性ウイルスの出現しにくい治療標的の発見を目指す。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> □ 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 □ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 □ 国内外を問わない。 □ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年10月	第59回日本鼻科学会総会・学術講演会 小笠原 徳子 シンポジウム5 若手による鼻科学の臨床と研究の架け橋 「鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎における2型自然リンパ球制御機構の解明」
2		
3		
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021年度	北海道ウイルス支部会発表予定
2	2021年度	日本ウイルス学会発表予定
3		
4		