

致死的な出血熱を引き起こすマールブルグウイルスの増殖機構を解明

—エボラ・マールブルグウイルスの創薬に期待—

概要

京都大学ウイルス・再生医科学研究所兼、同大学大学院生命科学研究科 野田 岳志 教授、藤田 陽子 同博士課程学生、京都大学白眉センター 杉田 征彦 特定助教、国立感染症研究所 ウイルス第一部 高松 由基 主任研究官、北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 五十嵐 学 准教授、フィリップ大学マールブルク Stephan Becker 教授らの国際共同研究グループは、マールブルグウイルスのウイルス核タンパク質-RNA 複合体の立体構造をクライオ電子顕微鏡解析により明らかにしました。本成果から、ヒトに致死的な出血熱を引き起こすマールブルグウイルスとエボラウイルスの増殖機構の一端が明らかになりました。

マールブルグウイルスは細胞で増殖する際、ウイルス遺伝子とウイルス核タンパク質から構成される螺旋状のヌクレオカプシドを形成します。ヌクレオカプシドはウイルス遺伝子を転写・複製し、ウイルス増殖環の中心を担う複合体ですが、その形成機構はこれまでわかっていませんでした。本研究グループは、マールブルグウイルスのヌクレオカプシドのコア構造であるウイルス核タンパク質-RNA 複合体 (NP-RNA 複合体) の立体構造を原子レベルで決定し、その形成に重要な相互作用を明らかにしただけでなく、マールブルグウイルスとエボラウイルスの NP-RNA 複合体の構造が非常に類似していることを明らかにしました。本研究成果は、マールブルグウイルス・エボラウイルスの増殖機構の解明と創薬に大きく貢献することが期待されます。

本成果は、2022年3月4日に国際学術誌「Nature Communications」に掲載されました。

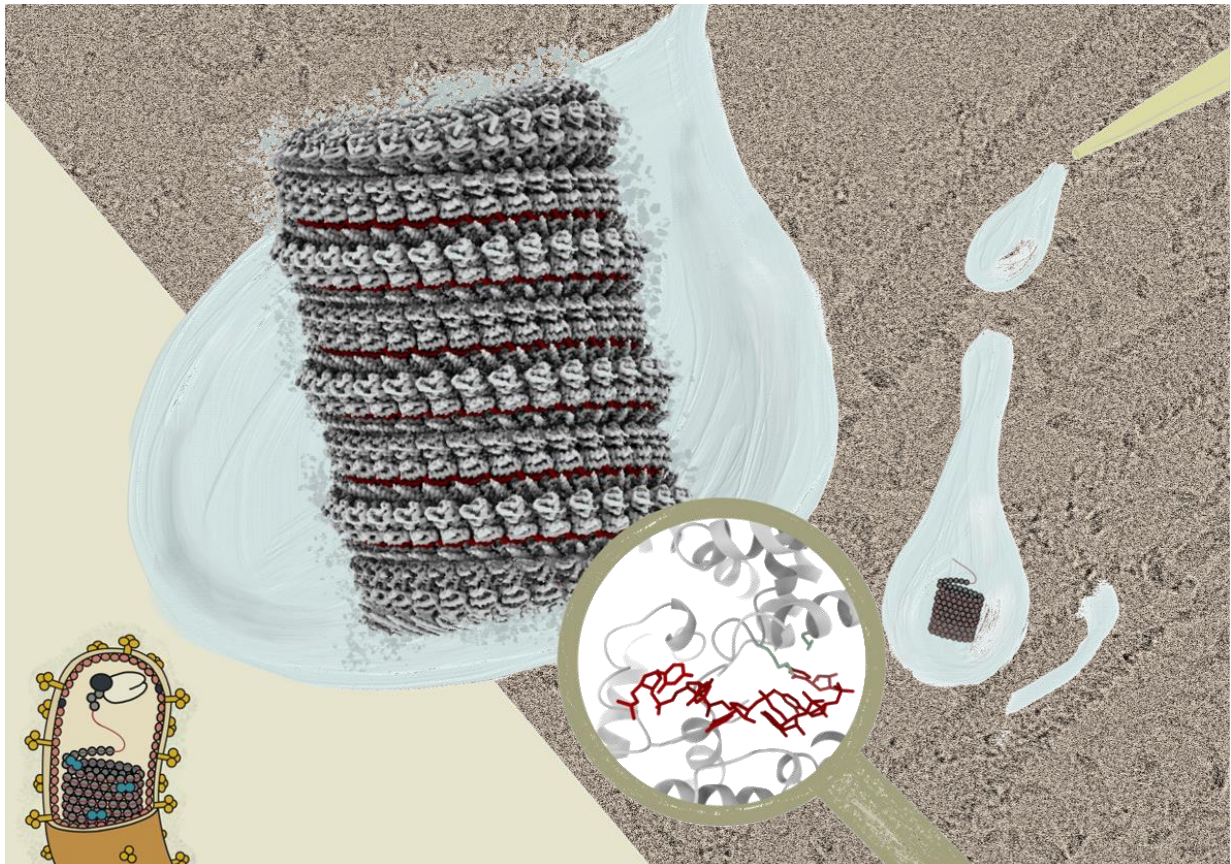


図 本研究のイメージ図

1. 背景

マールブルグウイルス（注 1）はエボラウイルスと同じフィロウイルス科（注 2）に属し、どちらのウイルスもヒトに対して高い致死率の出血熱を引き起こします。近年もアフリカで散発的な流行が繰り返されており、2021 年にはギニアやコンゴ民主共和国でアウトブレイクを起こしています。しかし、どちらのウイルスに対しても承認された治療薬は存在しません。マールブルグウイルスは感染細胞内において、ウイルス遺伝子とウイルス核タンパク質から構成される螺旋状のヌクレオカプシドを形成します。ヌクレオカプシドはウイルスゲノムの転写と複製に必須の複合体であり、ウイルス増殖環で中心的な役割を担います。しかし、マールブルグウイルスのヌクレオカプシド形成機構はこれまで明らかにされていませんでした。本研究グループは以前、エボラウイルスのヌクレオカプシドのコア構造であるウイルス核タンパク質-RNA 複合体（NP-RNA 複合体）の立体構造をクライオ電子顕微鏡解析により原子レベルで明らかにしました（Sugita et al., Nature, 2018）。そこで本研究では、マールブルグウイルスの NP-RNA 複合体の構造解析を実施し、エボラウイルスの NP-RNA 複合体と比較解析することで、フィロウイルスのヌクレオカプシド形成機構の解明を目指しました。

2. 研究手法・成果

マールブルグウイルスは一種病原体（感染症法上、もっとも危険度が高い）であり、バイオセーフティーレベル 4 の実験室で扱う必要があるため、日本国内ではウイルスを使用した実験はできません。そこで本研究では、マールブルグウイルスの核タンパク質（NP: nucleoprotein）のみを細胞内で発現させ、細胞の RNA と結合した NP-RNA 複合体を精製して構造解析に用いました。クライオ電子顕微鏡法（注 3）を用いて、精製した螺旋状 NP-RNA 複合体の画像を大量に撮影し、単粒子解析（注 4）によって分子構造を高分解能で決定後、その原子モデルを構築しました（図 1）。

興味深いことに、マールブルグウイルスの NP-RNA 複合体の構造は、エボラウイルスの NP-RNA 複合体の構造と非常によく似た構造をとっていました（図 2）。構築したマールブルグウイルスの NP-RNA 複合体の原子モデルから、NP と RNA の結合や、隣接する NP 同士の結合に重要なアミノ酸が推定されました（図 3）。そこで、構造情報を元に両ウイルスの NP にアミノ酸変異を導入し、この変異 NP を用いた機能解析を行ったところ、RNA との相互作用に重要なアミノ酸や、隣接する NP との相互作用に重要なアミノ酸、螺旋状 NP-RNA 複合体の形成に重要なアミノ酸が明らかになりました。これらの相互作用に重要なアミノ酸は、マールブルグウイルスとエボラウイルスの NP に共通して存在していました。

本研究成果は、マールブルグウイルスとエボラウイルスに共通するヌクレオカプシド形成機構を解明しただけでなく、両ウイルスに対して有効な抗ウイルス薬開発へと発展することが期待されます。

3. 波及効果、今後の予定

マールブルグ病とエボラウイルス病は、バイオテロや輸入感染症の観点から早急に対策を要するウイルス感染症のひとつですが、これらに有効な治療薬はありません。本研究では、マールブルグウイルスの NP-RNA 複合体の立体構造を原子レベルで明らかにし、ウイルス増殖に必要な相互作用を明らかにしました。また、エボラウイルスの NP-RNA 複合体の構造と比較解析することで、ヌクレオカプシド形成に重要なアミノ酸が両ウイルスで共通することを見出しました。本研究の結果により、マールブルグウイルスとエボラウイルスの両方に対して広く効果を示す治療薬開発への貢献が期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）（課題番号：19fk0108113, 20fk0108270h0001, 21wm0325023j0002）、科学技術振興機構 CREST（課題番号：JPMJCR20HA）、日本学術振興会（Core-to-Core Program A, 特別研究員奨励費 [課題番号：21J12207], 科学研究費助成事業 [課題番号：21K07052], 科学研究費補助金 基盤研究（B） [課題番号：20H03140]）、京都大学ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点、東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点、AMED-BINDS（課題番号：JP19am0101072）などの支援の下で実施されました。

<用語解説>

注1 マールブルグウイルス：1967年に西ドイツのマールブルクで、ウガンダから輸入されたアフリカミドリザルからヒトが感染したことにより発見された、高い致死率を示す急性熱性疾患を引き起こすウイルス。ときに出血症状を来すこともあり、感染症法上、もっとも危険度が高い一類感染症に指定されている。

注2 フィロウイルス科：ウイルスの分類において、非分節マイナス鎖 RNA をゲノムにもつモノネガウイルス目に属する一科。ウイルス粒子は紐のような細長い構造をもつ。エボラウイルスやマールブルグウイルスなどが分類される。

注3 クライオ電子顕微鏡法：試料を急速に凍結し、低温を保ったまま撮影する電子顕微鏡法。生体分子を自然に近い状態で観察できるという特徴がある。近年、カメラの高性能化や、画像解析法などの革新的な発達に伴って、基礎生物学・医学・薬学などの分野で重要な分子の構造が次々と明らかにされている。2017年には、クライオ電子顕微鏡法の開発に貢献した研究者にノーベル化学賞が授与された。

注4 単粒子解析法：電子顕微鏡像から観察対象である分子の三次元構造を再構築する手法の一つ。電子顕微鏡によって得られた二次元投影像から分子の画像をたくさん切り出し、三次元における分子の方向を計算して逆投影することで三次元構造を再構築する。

<研究者のコメント>

研究開始から論文発表までの間に、マールブルグウイルスの感染例1件、エボラウイルスのアウトブレイクが2件報告され、当該ウイルスを研究する者としてもどかしさを感じることもありました。本研究の成果は、現在起こっている感染の制御に直結するものではありませんが、今後、効果的な薬剤を開発する上での一助となることを期待しています。（藤田陽子）

<論文タイトルと著者>

タイトル：Structural insight into Marburg virus nucleoprotein-RNA complex formation (マールブルグウイルス核タンパク質-RNA 複合体の構造解析)

著者：Yoko Fujita-Fujiharu, Yukihiko Sugita, Yuki Takamatsu, Kazuya Hourii, Manabu Igarashi, Yukiko Muramoto, Masahiro Nakano, Yugo Tsunoda, Ichiro Taniguchi, Stephan Becker, and Takeshi Noda

掲載誌：Nature communications DOI：10.1038/s41467-022-28802-x

< 参考図表 >

マールブルグウイルスのNP-RNA複合体の構造

螺旋状NP-RNA複合体



NP-RNA複合体

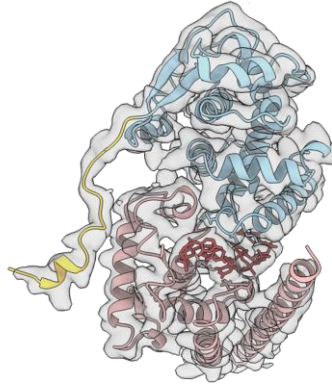
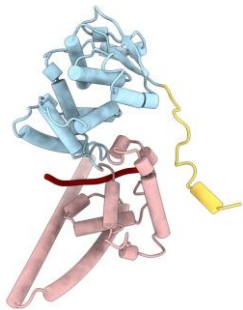


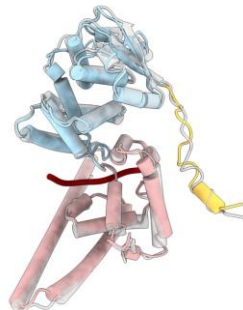
図1 マールブルグウイルス NP-RNA 複合体の全体構造。(左) 電子顕微鏡マップ。NP 単量体 (ピンク) と RNA (赤) が螺旋状の NP-RNA 複合体を形成する。(右) 原子モデル。NP の中心部にある溝に RNA (赤) が結合している。

フィロウイルスのNP-RNA複合体構造の比較

MARV NP-RNA



重ね合わせた構造



EBOV NP-RNA

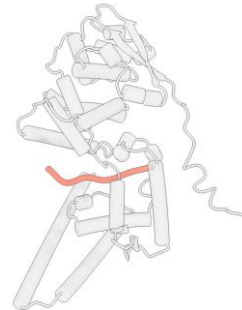


図2 マールブルグウイルス NP-RNA 複合体、エボラウイルス NP-RNA 複合体とそれぞれの重ね合わせ。両者の構造は非常によく似ている。

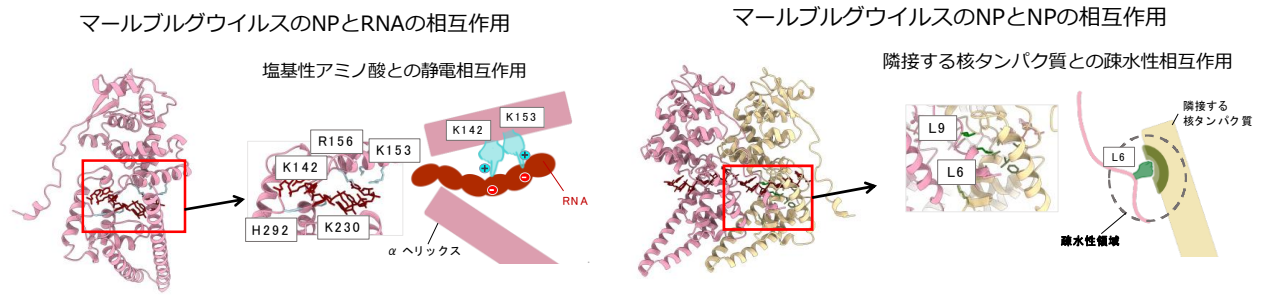


図3 NPとRNAの結合に重要な相互作用(左)とNP間の結合に重要な相互作用(右)の模式図。