

# ウイルスが抗ウイルスタンパク質をコード —20 アミノ酸で構成される VPg タンパク質—

## 概要

ウイルスは宿主の細胞に感染してその機能を使って増殖して細胞死を引き起こすことがあります。この時の細胞死の機構の解析を行いました。脳心筋炎ウイルス（EMCV）による細胞死の解析をしたところ、感染細胞から放出された因子によることが明らかになりました。この因子だけを正常な細胞に作用させると直接ウイルスが感染していないにも関わらず細胞を殺しました。この因子は免疫応答の結果、宿主細胞が産生するサイトカイン（注1）の一つである TNF- $\alpha$  と EMCV がコードする蛋白質 VPg の混合物である事が判明しました。VPg はこれまで EMCV の RNA 複製に必須のタンパク質として知られていましたが、今回新たな活性を有することを発見しました。VPg はアミノ酸 20 で構成される低分子です。さらに VPg はサイトカインであるインターフェロン  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) の受容体 (IFNGR1/2) に結合して IFN- $\gamma$  と同様な刺激を入れることによって、細胞死の誘導、抗ウイルス活性を示すことを発見しました (図 1)。VPg 単独で細胞死を誘導する活性がありますが、TNF- $\alpha$  との協調で作用が増大していることがわかりました。また、EMCV と近縁の数種のウイルス (カルディオウイルス属) の VPg にも同様な活性がありました。ウイルス自体が抗ウイルス活性を持つタンパク質、しかも宿主の免疫応答に重要な IFN- $\gamma$  の動きを模倣するタンパク質をコードしていることは予期しない発見でした。カルディオウイルスの VPg はその進化の過程でこの活性を獲得したものと考えられます。カルディオウイルスの病原性 (脳心筋炎の病態)、持続感染、感染個体間での伝搬効率などを規定しているものと考えています。IFN- $\gamma$  は腫瘍の治療などに用いられる生物製剤ですが、その分子量は 3 万であり大量生産と精製は容易ではなく、高コストになっています。VPg は分子量 3000 以下であり化学合成によって比較的安価に純品が得られます。このことから、感染症、腫瘍、免疫療法などへの応用が考えられます。本研究成果は、2025 年 12 月 16 日に国際学術誌「*Cell Reports*」にオンライン掲載されました。

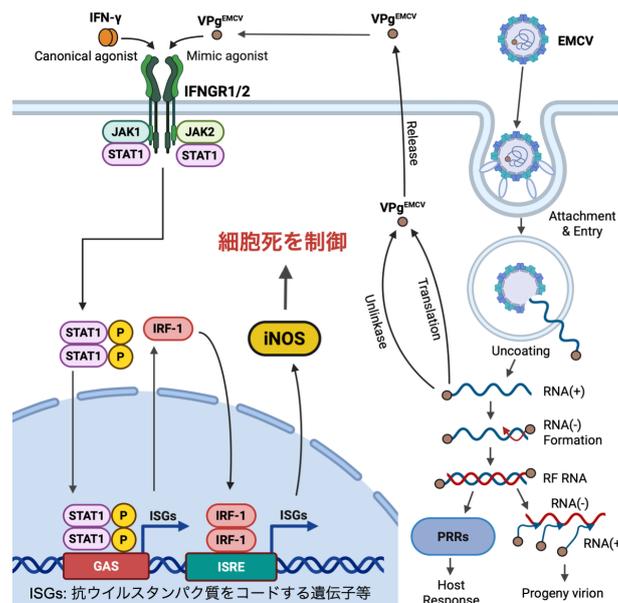


図1 EMCV の VPg は細胞外に放出され IFNGR1/2 に結合して IFN- $\gamma$  様の活性を誘導する。  
(BioRender で作製)

## 背景

ウイルスは自身を規定する遺伝子（ゲノム）のサイズが小さく、自己増殖をすることができません。そのため宿主である細胞に侵入（感染）してその機能を利用して増殖します。ウイルスが存続していくためには増殖したウイルス粒子が新たな宿主細胞に感染を続けて行く必要があります。本来ウイルスは宿主に知られずに増殖し、新たな感染を続けて行くのが理想と考えられますが、実際は感染した宿主細胞を、さらには宿主の動物を殺してしまう事が起きます。いくつかの異なる増殖様式のウイルスを培養細胞に感染してその細胞死を解析しました。その結果、EMCV 感染した場合、例外的に細胞を殺す因子が放出されている事がわかりました。実際には感染細胞の培養液からウイルス粒子を取り除いて新たな正常細胞にかけると細胞が死んでしまいました。これは感染した細胞に留まらず、周辺の子感染細胞をも殺していると考えられる現象です。この時放出された、「細胞死を誘導する因子」の正体を明らかにすることを目的に研究が始まりました。

### 1. 研究の手法と成果

まず、感染細胞の培養液を分子量で分画して「因子」の物質としての特徴を明らかにしました。その結果、因子は単独の物質ではなく、分子量 1 万以上、5 万未満の比較的高分子と分子量 3 千未満の低分子の混合物である事が明らかとなりました。新型コロナウイルス感染の場合、産生されたサイトカインである IFN- $\gamma$  と TNF- $\alpha$  が協調して細胞を殺すことが病原性を規定していると報告されていました。EMCV の場合調べてみると高分子の因子は確かに TNF- $\alpha$  である事が判明しました。しかし IFN- $\gamma$  はリンパ球などの特定の細胞が抗原刺激などで産生するもので、低分子ではありません。また、このような因子は別のウイルス感染では放出されないことから EMCV に規定されているものと考えました。分子量から EMCV のコードするタンパク質を調べたところ、アミノ酸 20 個からなる VPg に注目しました。実際に化学合成した EMCV の VPg を TNF- $\alpha$  と共に細胞に加えると強い細胞死が誘導されました。VPg はその命名から、ウイルスのゲノム RNA に結合した状態でウイルス粒子内に存在する事が知られ、それは VPg がウイルス RNA の複製の際のプライマー（注 2）として機能する重要なタンパク質であるためです。本来は感染細胞内で機能する VPg ですが、細胞外に放出され、全く別の機能を持つようになったと考えられました。

次に VPg がどのように TNF- $\alpha$  と協調的に細胞死を誘導するかを調べました。新型コロナウイルスの報告を参考に、VPg の作用と IFN- $\gamma$  の類似性について検討しました。その結果 VPg、IFN- $\gamma$  共に転写因子 STAT1（注 3）のリン酸化を誘導すること、またそのリン酸化を触媒する酵素である JAK（注 4）を阻害すると VPg の作用が失われることが判りました。IFN- $\gamma$  は細胞表面の受容体である IFNGR1、IFNGR2 というタンパク質に結合してその機能を発揮します。VPg も同様にこの受容体を利用しているか調べました。培養細胞で遺伝子編集の技術によって IFNGR1、IFNGR2 を欠損するものを作り、VPg に対する応答を調べたところ、いずれの受容体の一方でも欠けると応答が消失しました。さらに VPg は IFNGR1、IFNGR2 と結合することを確認しました。以上より、VPg は IFN- $\gamma$  受容体を介してシグナルを伝達すると結論しました。

受容体からのシグナルは最終的に遺伝子の発現誘導を介して生物学的な結果をもたらします。VPg と IFN- $\gamma$  による遺伝子発現誘導を比較すると、確かに共通の遺伝子が活性化されていました。一方いくつかの遺伝子の発言は VPg 特異的に抑制される事が判明し、いくつかの細胞増殖促進に関するものが含まれていました。以上の結果を図 2 にまとめました。

## 2. 波及効果・今後の予定

ウイルス自体が抗ウイルス活性を持つタンパク質、しかも宿主の免疫応答に重要な IFN- $\gamma$  の働きを模倣するタンパク質をコードしていることは予期しない発見でした。マウスへの EMCV 感染で VPg の活性を阻害すると EMCV の増殖が増大し、病原性が増加しました (図 2 左下)。このことは EMCV の VPg は自らの増殖を抑制している事を示しています。生物学的には EMCV の VPg は病原性 (脳心筋炎の病態)、持続感染、ウイルスの個体間で伝搬効率などを規定していると想像されますが、今後の研究が待たれます。

IFN- $\gamma$  は腫瘍の治療などに用いられる生物製剤ですが、その分子量は 3 万であり、組み換え体大腸菌や培養細胞を用いて産生して精製する必要があるため、高コストになっています。VPg は分子量 3000 以下であり化学合成によって比較的安価に純品が得られます。このことから、癌などの腫瘍の治療への応用が考えられます (図 2 右下)。VPg は IFN- $\gamma$  同様、宿主細胞に働きかけることによって様々なウイルスの増殖を阻害する活性を持つと考えられます。ウイルス感染症の治療、ウイルス感染予防用のワクチンへの応用も期待されます。

## 3. 研究プロジェクトについて

本研究は以下の研究費によって行われました。

Japan Agency for Medical Research and Development (AMED): Research Program on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases [jp19fk0108081h1001, jp20fk01080811h1202, jp21fk01080811h1203]; Japan Society for the Promotion of Science (JSPS): Fund for the Promotion of Joint International Research: Fostering Joint International Research (B) [18KK0232]; Core to Core Program: Grant-in-Aid for Scientific Research 'B' [18H02344; and Grant-in-Aid for Encouragement of Scientists [24H02688]. This study was also funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation); Germany's Excellence Strategy - EXC2151 - ImmunoSensation<sup>2</sup> [390873048] and DFG TRR 237 [369799452 (B22)].

### <用語解説>

- (注 1) 細胞が分泌する免疫制御タンパク質で多くの種類があり、細胞間での情報の伝達を担っています。分泌されたサイトカインは細胞表面に発現する受容体に作用して、抗ウイルスなどの生物活性を誘導します。
- (注 2) EMCV などの RNA ウイルスは RNA を鋳型として相補的な配列を持つ RNA を合成して増殖します。複製は短い RNA (VPg に結合した pUpU) をプライマーとして、鋳型 RNA と相互作用して開始します。その為合成された RNA の末端 (5'末端) には VPg が結合したままになります。
- (注 3) Signal Transducers and Transcription Factor-1. 通常は細胞質に局在する蛋白質ですが、サイトカインなどの刺激によってリン酸化を受け、2 量体を形成して核に移行して遺伝子発現を誘導する転写因子として機能します。
- (注 4) STAT の特定のチロシン残基のリン酸化を触媒する酵素。受容体にサイトカインが結合することによって活性化してリン酸化を触媒します。

### <研究者のコメント>

ウイルスの RNA 複製に必須なタンパク質 VPg が、それまで知られていなかった、サイトカインとしての活性を持つという発見は、それまでの常識を覆すもので、論文投稿した際、事実であることの多くの証拠を求められました。証明には多くの時間がかかりましたが、ウイルス学、免疫学の新たな扉を開く事ができたと考えています。

### <論文タイトルと著者>

タイトル：A 20-amino-acid *Cardiovirus* protein exhibits cytokine-mimicry activity to regulate viral replication (20 アミノ酸で構成されるカルディオウイルスのタンパク質はサイトカインの作用を模倣してウイルスの増殖を制御している)

著者：

京都大学医生物学研究所 再生組織構築研究部門 再生免疫学教室

連携教授 藤田尚志、特定助教 竹内文彦、技術補佐員 白坂勇太郎

京都大学大学院生命科学研究科 細胞情報動体学分野

教授 藤田尚志 (研究当時)、大学院生 (博士) 白坂勇太郎 (研究当時)

東京都医学総合研究所 感染症医学研究センター

研究員 小池智

ボン大学 心血管系研究所

教授 加藤博己

掲載誌： *Cell Reports* DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.116740>

< 参考図表 >

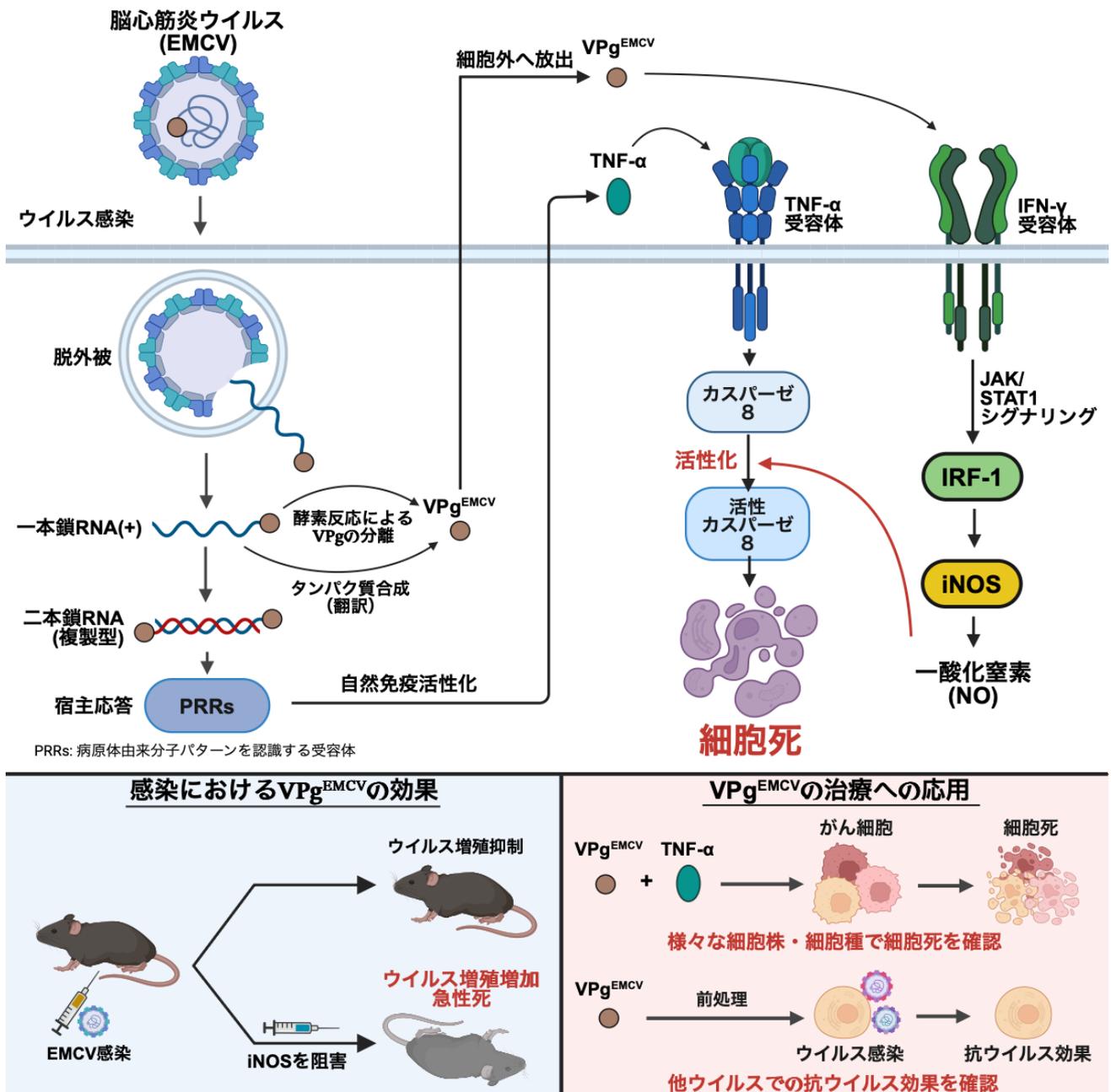


図2 左上：以前から EMCV の VPg は RNA 複製のプライマーとして重要な機能を果たしていることは広く知られていました。右上：今回の研究で VPg は細胞外にも放出され別の細胞の表面に発現する IFN- $\gamma$  受容体に結合してと同様なシグナルを誘導することを発見しました。このシグナルは作用した細胞での抗ウイルス効果や、一酸化酵素合成酵素 (iNOS) の誘導を引き起こします。また、ウイルス感染は自然免疫応答を誘導して TNF- $\alpha$  を誘導します。TNF- $\alpha$  のシグナルは iNOS と協調的に作用して細胞死を引き起こし、ウイルスの増殖を減弱させます。左下：EMCV が感染したマウスで iNOS を阻害すると、より激しい病態が観察されます。右下：VPg 単独や TNF- $\alpha$  との混合処理によって強力な細胞死が誘導されることから、癌治療への応用、抗ウイルス活性 (様々な種類のウイルス増殖を抑制する活性) を利用したウイルス感染症の治療への応用が期待されます。(BioRender で作製)