ガングリオシド発現の違いによるインフルエンザウイルス感染性の変化

Change to influenza virus infectivity by difference of gangliosides expression.

中部大1、香川大2、京都府立医大3、阪大産研4

〇平松宏明¹, V. Kudkyal¹, 林京子¹, 大海雄介¹, 中北愼一², 渡邊洋平³, 小野尭生⁴, 金井康⁴, 松本和彦⁴, 河原敏男¹

Chubu Univ.¹, Kagawa Univ.², KPUM³, ISIR, Osaka Univ.⁴

OH. Hiramatsu¹, V. Kudkyal¹, K. Hayashi¹, Y. Ohmi¹, S. Nakakita², Y. Watanabe³, T. Ono⁴, Y. Kanai⁴, K. Matsumoto⁴ and T. Kawahara¹

E-mail: hiramatu@isc.chubu.ac.jp

[はじめに] インフルエンザウイルスは変異しやすく、現在でもパンデミックの脅威に晒されている。早期のパンデミック対策を実現するためには、その変異を検出することができる超高感度センサーの開発が求められている。これまで、プレート上に展開された単一の糖鎖分子とウイルスの反応性を詳細に解析してきたが、実際のウイルスの反応は細胞膜上で起こり、細胞膜上で複数の分子により構成される微細構造の影響を受ける。

そこで、我々は糖転移酵素欠損マウスの脳より樹立した初代培養細胞を用いて、レセプター 糖鎖の分布やインフルエンザウイルスとの反応について調べた。

[方法]様々な糖脂質変異を惹起する糖転移酵素遺伝子ノックアウトマウス(DKO)の脳から樹立したアストロサイトを用いて、ヒトおよび鳥インフルエンザウイルスを感染させ、経時的に培養上清をサンプリングした。得られた培養上清中の感染可能なウイルス量の評価をイヌ腎上皮由来 MDCK 細胞を用いたプラークアッセイにより行った。レセプターの分布解析については、インフルエンザウイルスレセプターと特異的に認識するレクチンを用いた蛍光染色を行なった。

[結果と考察] まず、アストロサイトにおけるインフルエンザウイルスレセプターであるシアロ糖鎖の発現をレクチン染色により調べたところ、DKOマウスのアストロサイトでの糖鎖発現は野生型マウス(WT)と比較しても発現に差は見られなかった。次に、アストロサイトにヒト及び鳥インフルエンザウイルスを感染させた後、経時的に回収した培養上清を MDCK 細胞に加えたとき、プラークの形成は見られず、増殖は見られなかった。次に、アストロサイトに対してウイルスの感染がどのステージまで成立しているのかを調べたところ、吸着反応までは成立していることが分かった。

これは以前我々が行ったガングリオシドを用いた ELISA とは異なった結果になっていて、細胞膜上に存在する複数の糖鎖の分布により感染が制御されていると考えられる。

現在、ヒト癌細胞(メラノーマ)由来のガングリオシド高発現細胞を用いて、インフルエンザウイルスの感染・増殖について解析している。