

論文要旨（和文）

ノロウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ遺伝子 およびプロテアーゼ遺伝子の分子進化に関する研究

保健科学研究科 博士後期課程 保健科学専攻 医療科学領域
18D101 尾崎 恵太

本研究では、「ノロウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ遺伝子およびプロテアーゼ遺伝子の分子進化に関する研究」と題して、ノロウイルス（以下、NoV）ゲノムの複製に重要な RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（RNA dependent RNA polymerase、以下 RdRp）をコードする遺伝子および翻訳タンパク質の開裂に必須のプロテアーゼ（protease）をコードする遺伝子の分子進化に関する研究を種々のバイオインフォマティクス技術を用いて行った。

「緒論」では、NoV の疫学や遺伝学的特性などの NoV の特徴、分子進化学とバイオインフォマティクス技術ならびに本研究の目的について述べた。

「第一章 ノロウイルス遺伝子群 II の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ遺伝子の分子進化に関する研究」では、まず NoV 遺伝子群 II（Genogroup II、以下 GII）RdRp 遺伝子全長の塩基配列の網羅的収集を行い、Bayesian Markov chain Monte Carlo (MCMC) 法による時系列系統解析を行った。その結果、NoV GII の RdRp 遺伝子は GIV から約 570 年前に分岐し、現在に至るまで 23 の遺伝子型に進化し、3 つの系統（lineage）を形成した。進化速度は各遺伝子型により異なり、 10^{-3} substitutions/site/year 以上と推定され、進化は急速であったことを明らかにした。さらに、ホモロジーモデリング法を用い、各遺伝子型の RdRp タンパク質の立体構造を構築し、アミノ酸置換部位や選択圧の予測された部位を立体構造上にプロットした。その結果、RdRp タンパク質におけるアミノ酸置換部位（39-107 部位）および負の選択と推定された部位（負の選択部位）の多くは立体構造の外側に推定された。一方で、正の選択部位は認められなかった。また、Bayesian skyline plot 法を用いて、NoV GII の RdRp 遺伝子のゲノムポピュレーションサイズの推移を解析したところ、複数の遺伝子型でゲノムポピュレーションサイズの上昇した年代と過去の疫学調査によって流行が報告された年代が一致した。そのため、十分な NoV ゲノムプールを作成すれば、BSP 法により、各遺伝子型の過去の流行動向を推定することが可能と思われた。

次に、「第二章 ノロウイルス遺伝子群 II のプロテアーゼ遺伝子の分子進化に関する研究」では、RdRp 遺伝子同様 NoV GII の Pro 遺伝子全長配列を網羅的に収集し、Bayesian MCMC 法によって時系列系統解析を行った。その結果、NoV GII は GIV から約 340 年前に分岐し、GII クラスタ（集団）は約 270 年前に分岐を開始した。そして、現在に至るまで 26 の遺伝子型へ進化し、それら遺伝子型は 3 つの系統を形成することが示唆された。さらに、NoV GII の RdRp 遺伝子と Pro 遺伝子の進化パターン（系統樹の形状および分岐年代）は類似していたことから、両遺伝子は共進化したことが推察された。一方、両遺伝子と VP1 遺伝子とは異なる進化パターンを示したが、この原因として、NoV ゲノムのオープンリーディングフレーム 1（Open reading frame 1、以下 ORF1）と ORF2 の結合部位で生じる組換えが各遺伝子の進化に影響することが示唆された。さらに、ホモロジーモデリング法を用いて、RdRp タンパク質同様、プロテアーゼタンパク質の立体構造を構築し、置換部位や選択部位に関する構造解析を行った。その結果、NoV GII のプロテアーゼタンパク質は多くのアミノ酸置換を伴いながら進化した。これらの置換部位のうち、感染後の生体防御の圧力による正の選択部位は認められなかった。また、プロテアーゼの活性中心から離れた部位のアミノ酸置換は、負の選択部位と推定され、活性中心に隣接したアミノ酸置換のほとんどは中立突然変異と推定された。このことは、プロテアーゼの活性中心から離れたアミノ酸部位の突然変異はウイルスの生存にとって有害となり得るが、活性中心近傍の突然変異は進化において有利にも不利にも作用しないことが示唆された。また、NoV GII の Pro 遺伝子のゲノムポピュレーションサイズの推移は、各遺伝子型で異なっており、そのサイズ変動は過去の疫学報告と一致し、過去の流行が推測可能であると示唆された。

以上のことから、本研究によって、NoV GII の RdRp 遺伝子および Pro 遺伝子の分子進化の一端を明らかにすることができた。そして、得られた知見は、今後の NoV の抗ウイルス薬の開発や流行予測に資すると考えられる。

キーワード：ノロウイルス、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ、プロテアーゼ、分子進化