

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	インフルエンザウイルス感染細胞内のシアリダーゼ活性の解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸
	研究分担者	所属・職名	広島国際大学薬学部・教授	氏名	池田 潔
		所属・職名	薬学部生化学分野・助教	氏名	紅林 佑希
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	高橋 忠伸

講演題目	インフルエンザウイルス感染細胞内のシアリダーゼ活性の解析
------	------------------------------

**研究の目的、成果及び今後の展望**

A型インフルエンザウイルスの表面酵素ノイラミニダーゼ (NA) は、糖鎖末端のシアル酸を切断する加水分解酵素「シアリダーゼ」の活性を示す。ウイルス感染細胞内で新しく合成される NA は、ゴルジ装置に局在して糖鎖修飾を受けてから細胞膜表面へ移行する。感染細胞内の新生 NA は、ゴルジ装置に局在した時点でシアリダーゼ活性を有しているものと予想されてきたが、証明はされていない。代表者は研究分担者と、シアリダーゼ活性を局所的に蛍光イメージングするプローブ「BTP3-Neu5Ac」を開発してきた。さらに新プローブ「BTP9-Neu5Ac」も開発した。BTP3-Neu5Acと比較して BTP9-Neu5Ac は高い局所染色性を示す。本研究では独自開発した蛍光プローブを利用して、感染細胞内のゴルジ装置に局在した新生 NA のシアリダーゼ活性を可視化することで、細胞内シアリダーゼ活性の解析法を確立する。抗インフルエンザ薬 (シアリダーゼ阻害薬) のイナビル (ラニナミビル オクタン酸エステル) は、細胞内に移行して内在性エステラーゼによってオクタン酸エステルが切断されることで活性体のラニナミビルに変換され、細胞内でシアリダーゼ阻害効果を発揮することが推測されている。しかし細胞内 NA の阻害効果は、細胞内シアリダーゼの解析手法が無く、明確にはなっていない。本研究で確立する手法を用いて、細胞内の NA のシアリダーゼ活性がイナビルにより阻害されるかを解析することで、イナビルの作用機序を明らかにする。

A型インフルエンザウイルス感染7時間後、ヒト肺がん由来 A549 細胞内のゴルジ装置に新生 NA が局在した。BTP9-Neu5Ac の利用により、細胞内ゴルジ装置に局在した新生 NA のシアリダーゼ活性を蛍光イメージングできた。また、ゴルジ装置の NA がシアリダーゼ活性を発揮することを明らかにした。ここで確立した細胞内 NA のシアリダーゼ活性の蛍光イメージング法を利用して、細胞内ゴルジ装置に局在した NA のシアリダーゼ活性を、イナビルが阻害することを明確に可視化した。一方で細胞内へ移行しないと報告されている抗インフルエンザ薬のザナミビルやイナビル活性体のラニナミビルは、細胞内 NA のシアリダーゼ活性を阻害しなかった。本研究は、イナビルが細胞内 NA のシアリダーゼ活性を標的として阻害することを明確に示した。

細胞内 NA のシアリダーゼ活性を可視化できることで、NA のシアリダーゼ活性に対して新しい解析法を提供でき、NA の未知の機能を解明できるものと期待される。本研究の手法は、細胞内 NA のシアリダーゼ活性阻害を作用機構とする、イナビルのような長時間作用型シアリダーゼ阻害剤の探索にも利用できる。