

バキュロウイルスの攻撃が哺乳動物細胞に与える影響について

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野
荒谷 恵梨子

(背景と目的)

Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus (*AcMNPV*) は、主にヨトウガ類を宿主とする昆虫病原性ウイルスである。多様な哺乳動物細胞にも侵入可能であり、複製せず細胞毒性が低いことから、哺乳動物細胞に対する安全性の高い遺伝子導入ベクターとして注目されることとなった。また、*AcMNPV* が哺乳動物細胞やマウスにおいて自然免疫や獲得免疫を獲得するなど、様々な生理活性変化をもたらすという報告もある。一方、*AcMNPV* は通常の感染経路で哺乳動物細胞に侵入した後、一部の遺伝子を発現することが明らかとなっており (Fujita *et al.*, 2006)、それらの発現が細胞にどのような影響を及ぼすか、あるいは及ぼす可能性があるのかは現在明らかではない。また、*AcMNPV* の攻撃が哺乳動物細胞の生理に与える影響の解析も十分とは言えない。そこで、本研究では *AcMNPV* の攻撃が哺乳動物細胞の増殖にどのような影響を与えるのかを調査した。

(方法)

哺乳動物細胞 (HeLa14, BHK, Huh7) に、昆虫細胞 (Sf9) で増殖させ、超遠心処理で濃縮したウイルス接種液をこれらの細胞に moi 100 で接種し、その後の細胞増殖を観察した。紫外線で不活化したウイルス液を用い、また、超遠心による濃縮処理を行わないウイルスを接種材料とし同様の実験を行った。さらに、ウイルスを接種したこれらの細胞について、細胞毒性試験と flow cytometry を用いた細胞周期の解析を行った。

(結果と考察)

超遠心で濃縮したウイルス液を接種したところ、Huh7 細胞を除く HeLa14, BHK 細胞で細胞増殖抑制効果が認められた。一方、超遠心による濃縮処理を行わないウイルスを接種した HeLa14, BHK 細胞では、増殖抑制が観察されなかったことから、ウイルス粒子が影響している可能性は低いと考えられた。また、不活化ウイルスを接種した場合にも、細胞増殖抑制効果が認められたことから、ここで観察された細胞増殖抑制効果は、ウイルスの遺伝子発現に起因するものではないと推定された。非感染 Sf9 細胞の培養上清や細胞抽出物には、哺乳動物細胞の増殖抑制効果は認められなかった。これらのことから、細胞増殖抑制活性を有する成分は、ウイルス感染 Sf9 細胞の培養細胞上清特異的に超遠心処理により回収される成分が関与していると考えられた。さらに、ATP と親和性の高い成分が関与している可能性が高いと考えられた。ここで細胞増殖が抑制された原因として、細胞死と細胞周期への関与を調査したところ、細胞死が原因で生じているとは考えにくく、G2/M 期の細胞が蓄積する傾向が見られたことから、ウイルス感染 Sf9 細胞から、これら哺乳動物細胞の細胞周期を G2/M 期で停止させる因子が分泌されている可能性が示唆された。