

## 5. パラミクソウイルスの分子進化

伊藤 康彦

(三重大学医学部微生物学教室)

### 1. パラミクソウイルスに属するウイルス

パラミクソウイルスはヒトの呼吸器感染症の原因ウイルスとして重要な位置を占めている。パラミクソウイルス科には麻疹, 流行性耳下腺炎や感冒様症状を起こす多彩なウイルスが属し, その相互関係に関しては従来より議論の多いところではあるが, 本シンポジウムでは近年明らかにされたパラミクソウイルスの遺伝子構造を基礎に広い意味でのパラミクソウイルスの分子進化について論じた。

パラミクソウイルス糖蛋白の生物学的活性により, パラミクソウイルス, モルビリウイルス, ニューモウイルス属に従来分類されてきて, 教科書の多くにもそのように記載されている。パラミクソウイルスをヒト型パラミクソウイルスと動物型パラミクソウイルスに分ける分類の仕方もあるが, SV5やSV41のように自然宿主は犬および猿と思われるが, 近年の研究によってそれらのウイルスがヒトに感染していることが明らかになってきた<sup>21)</sup>。我々は, パラミクソウイルス属に属し, ヒトに感染しうるウイルスを中心に解析を進めてきた<sup>1-31)</sup>。その結果, 従来の分類と分子系統関係とのあいだに大きな乖離があることが明らかになった。

### 2. パラミクソウイルス間の免疫学的相関

従来からパラミクソウイルス間には抗原的な交差反

応が知られていたが, 用いる抗血清によって種々の結果が出て, 報告間に一貫性・統一性がなかった。我々はできる限り多数の抗血清(因子血清も含む)・モノクローナル抗体やウイルス株を入手し, Radioimmuno-precipitation(放射性免疫沈降法)によってパラミクソウイルス間の免疫学的相関関係を明らかにした<sup>4,10-15,19,21,25-28)</sup>。詳細はすでに発表しているので, 結論だけ述べると,

a) パラミクソウイルスは大きく二つのグループに分かれる。一つは, ヒトパラインフルエンザウイルス1型(HPIV-1)を代表とするグループ[HPIV-1, センダイウイルス(SV), ヒトパラインフルエンザウイルス3型(HPIV-3), ウシパラインフルエンザウイルス3型(BPIV-3)]とヒトパラインフルエンザウイルス2型(HPIV-2)を代表とするグループ[HPIV-2, ヒトパラインフルエンザウイルス4A型(HPIV-4A), ヒトパラインフルエンザウイルス4B型(HPIV-4B), SV5, SV41)に分かれる。

b) ヒト型パラミクソウイルスは全体として一つの抗原グループを形成している。

c) トリ型パラミクソウイルスに属するニューカスル病ウイルス(NDV)はヒトパラインフルエンザウイルス2型グループと抗原的な交差が認められるが, 相対的に独立している。

d) 麻疹ウイルス(MV)は多数の組み合わせの中で, SV41のNP蛋白と抗麻疹ウイルスウサギ血清の一つのロットだけが交差反応性を示した。このことは, 麻疹ウイルスはパラミクソウイルス属に属するウイルスとは免疫学的には離れていることを示している。免疫学的相関関係を数値化して描いた系統樹を図-1に示す。

Molecular Evolution of Paramyxoviruses

Yasuhiko Ito

Department of Microbiology,

Mie University School of Medicine,

2-174 Edobashi,

Tsu-city, 514Mie

〒514 三重県津市江戸橋2-174

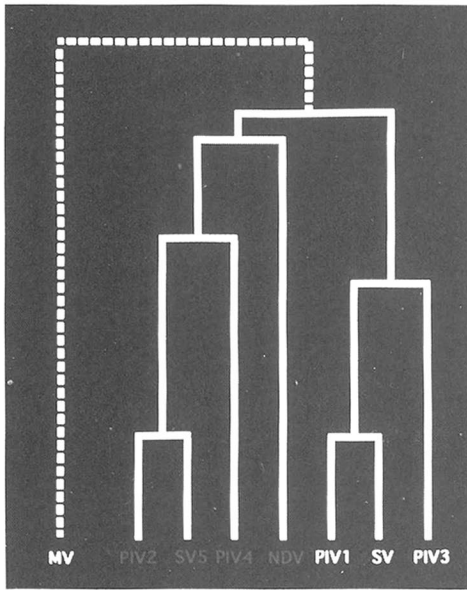


図1 パラミクソウイルス間の免疫学的相関

### 3. パラミクソウイルスの遺伝子構造

図-2にパラミクソウイルスの遺伝子構造を示す。パラミクソウイルスのゲノム構造は一本鎖で直鎖状のマイナス鎖RNAであり、沈降係数50S, 約15,000塩基に相当する。いずれのウイルスもゲノム上の遺伝子の配列は、3'-Leader-NP-P/V-M-F-HN-L-Trailer-5'である。ニューモウイルスではFとGのgene orderが逆転しており、さらに機能の明らかでない複数の遺伝子が存在している。遺伝子の3'末端には開始シグナル(R1), 5'末端には終結シグナル(R2)があり、遺伝子間には介在配列が存在している。

### 4. パラミクソウイルスの分子進化

図-3にNP蛋白とM蛋白のアミノ酸置換に基づいて作成した分子進化系統樹を示す<sup>7,16,18,20,24,29,31</sup>)。分子進化系統樹は4つの計算方法に基づいて作成したが、基本的には各々の間に相違はなかった。パラミクソウイルス属は分子進化系統樹においてパラインフルエンザウイルス1型のグループとパラインフルエンザウイルス2型のグループとに分かれる。これは先に述べた免疫学的相関関係とも一致する。介在配列の正確な機能は不明であるが、パラインフルエンザウイルス1型のグループでは高度に保存されており、SV, HPIV-3

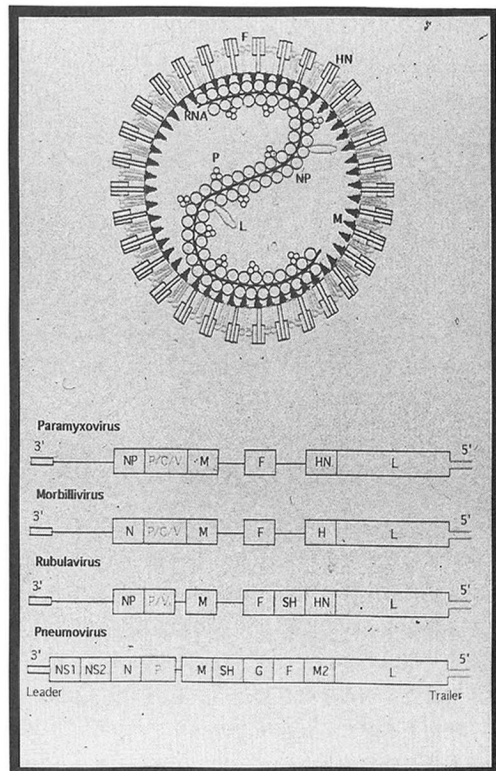


図2 パラミクソウイルスの遺伝子構造

では、いずれもGAAの3塩基配列である。それに反して、パラインフルエンザウイルス2型のグループに属するウイルスでは、その介在配列は長さも配列もさまざままで、ほとんど保存されていない。介在配列から見てもパラミクソウイルス属は二つのグループに分かれる<sup>8)</sup>。非翻訳領域の長さも両グループで明らかな差が認められる(図-4)<sup>6)</sup>。

### 5. P/V遺伝子から見たパラミクソウイルスの分子進化

パラインフルエンザウイルス1型のグループとパラインフルエンザウイルス2型のグループのP遺伝子の

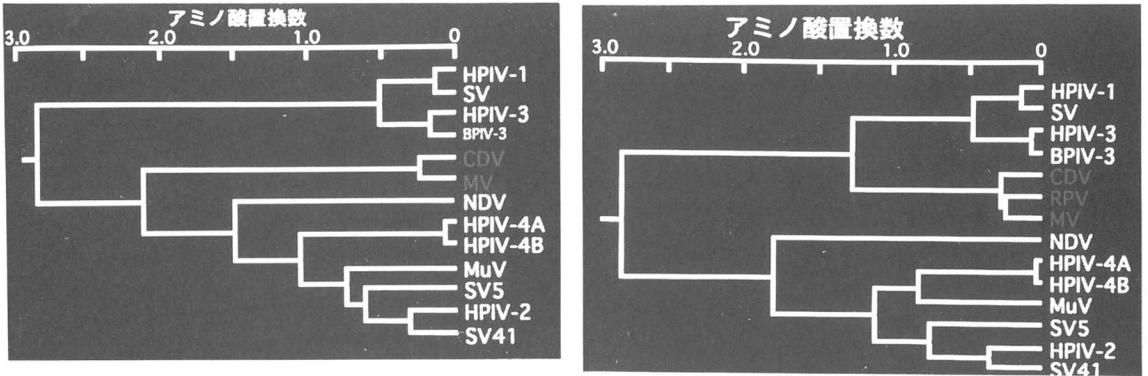


図3 パラミクソウイルス NP 蛋白の進化系統樹(左)パラミクソウイルス M 蛋白の進化系統樹(右)

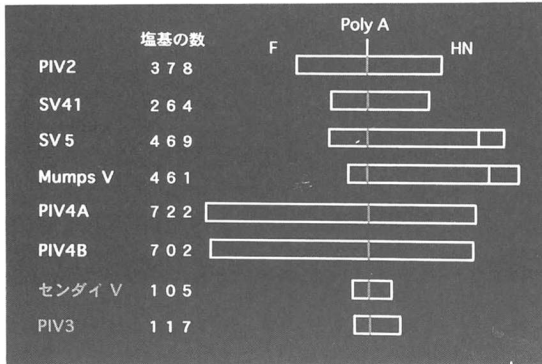


図4 F-HN の非翻訳領域

構造を図-5に示す。パラインフルエンザウイルス1型のグループではP遺伝子はP蛋白をコードしており、一つのG塩基を翻訳過程で挿入するRNA-Editingという機構でV蛋白をコードするmRNAを作り出す。一方パラインフルエンザウイルス2型のグループではP遺伝子はV蛋白をコードしており、二つのG塩基を挿入するRNA-EditingでP蛋白をコードするmRNAを作り出す<sup>9,17,30)</sup>。従って、P遺伝子の構造からもパラミクソウイルスは二つのグループに分かれる。P/V蛋白のアミノ酸配列について分子進化学的解析を行ってみるといくつかの奇妙な点に気がつく<sup>8,17)</sup>

(a) P/V蛋白は全体では全パラミクソウイルス間ではAlignmentができない。N末端のP/V共通領域は配列も長さも異なっている。

(b) パラインフルエンザウイルス1型のグループのP蛋白の分子量はパラインフルエンザウイルス2型のグループのP蛋白に比較してかなり大きい。その分子量の差はP/V共通領域の長さの違いに起因してい

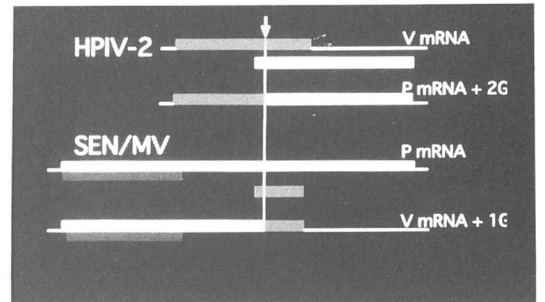


図5 P遺伝子の構造

る。

(c) パラミクソウイルスの各々のグループ内ではP/V蛋白は全体でAlignmentが可能である。

(d) サブタイプ別にはAlignmentできるが、Editing Site付近に不規則なdeletionを入れなければならない。

(e) P/V蛋白特異領域では全パラミクソウイルス間でAlignmentができる。

(f) P/V遺伝子の分子進化は、特にパラインフルエンザウイルス2型のグループでは、V蛋白の機能的制約を受けている。

これらの事実はパラミクソウイルスの分子進化がより動的な過程を経てきたことを示唆しているかもしれない。

## 6. モルビリウイルスとパラインフルエンザウイルスの分子進化的位置

F蛋白アミノ酸配列に基づいて、モルビリウイルスとパラインフルエンザウイルスの分子進化的関係を解析した(図-6)<sup>6,15,30)</sup>。予想に反して、パラインフルエンザウイルス1型のグループとパラインフルエンザ

## アミノ酸置換数

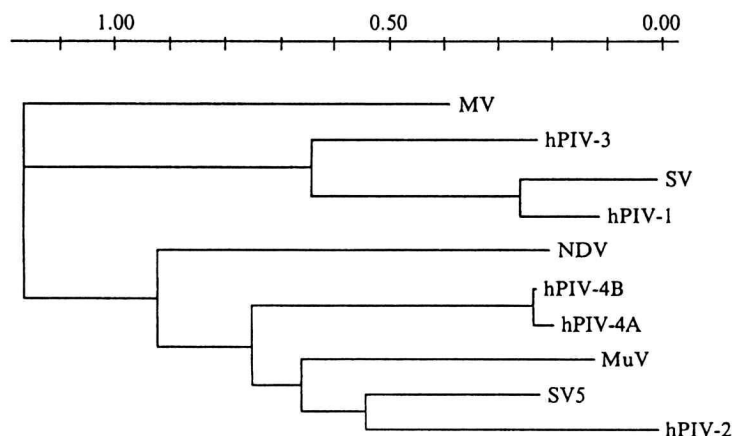


図6 F蛋白に基づくパラミクソウイルスの分子進化系統樹

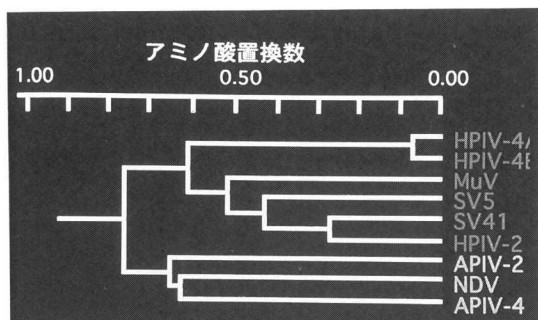


図7 パラミクソ2型ウイルスの進化系統樹

ウイルス2型のグループとの進化的距離が麻疹ウイルスとパラインフルエンザウイルスのサブグループとの距離に等しいという結果を得た。これは、糖蛋白の生物活性からパラミクソウイルス属とモルビリウイルス属とに分ける従来の分類に反するものである。次にNP蛋白とM蛋白のアミノ酸配列の基づく分子進化系統樹を図-3に示す<sup>7,16,18,20,24,29,31</sup>。これらはどの蛋白を基準にとるかによって、モルビリウイルスの分子進化的位置が異なっていることを示している。これらのことを理解するためにはモルビリウイルスが分子進化の過程でかなりの動的变化(例えば recombination)を行っている可能性も視野に入れる必要があろう。

### 1. パラインフルエンザウイルス2型のグループの分子進化

HN蛋白のアミノ酸配列に基づき、報告されている全てのパラインフルエンザウイルス2型のグループに

属するウイルスの詳細な分子進化系統樹を図-7に示す<sup>1,5,19,26</sup>。パラインフルエンザウイルス2型のグループは哺乳類パラインフルエンザウイルスとトリパラインフルエンザウイルスに分けられる。1970年代に呼吸器症状を起こしているカンクイザルから分離されたムラヤマウイルスの抗原分析と遺伝子解析を行ったところ、トリパラインフルエンザウイルス2型と非常に近縁であることが明らかになった<sup>19</sup>。長い進化の過程で哺乳類パラインフルエンザウイルスとトリパラインフルエンザウイルスとの間に交流のあったことを考えさせる。パラインフルエンザウイルス2型のグループに属するウイルスのF遺伝子とHN遺伝子の間の非翻訳領域はパラインフルエンザウイルス1型のグループと比較して長い(図-4)<sup>6,15</sup>。特にパラインフルエンザウイルス4型ではA亜型、B亜型とも非常に長く700-800塩基も非翻訳領域がある<sup>15</sup>。SV5と流行性耳下腺炎ウイルス(MuV)にはこの領域に当たるところにSH遺伝子が存在し、SH蛋白をコードしている。HPIV-2とSV41にはSH遺伝子は存在しないが、3'側HN非翻訳領域にその痕跡があり、約170塩基が脱落して、Open Reading Frameが消失している<sup>6</sup>。パラインフルエンザウイルス4型に見られるF遺伝子とHN遺伝子の間の長い非翻訳領域は遺伝子重複が進化の過程で起きたことを示唆している。これらの事実もパラミクソウイルスの分子進化が動的な過程であったことを示している。

パラインフルエンザ2型ウイルスは抗原的にも細胞傷害性の強さからみても heterogeneity がある<sup>2,26</sup>。種々

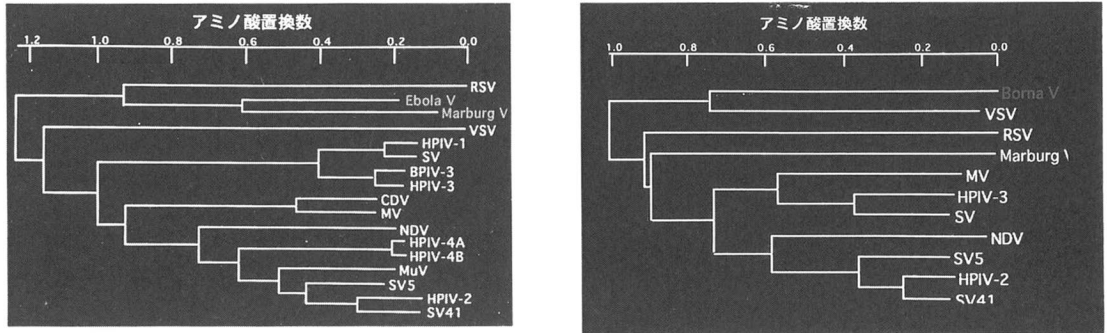


図8 NP蛋白に基づくモノネガウイルスの進化系統樹(左)L蛋白に基づくモノネガウイルスの進化系統樹(右)

## ORDER MONONEGAVIRALES

### TAXONOMIC STRUCTURE OF THE ORDER

Order	<i>Mononegavirales</i>
Family	<i>Paramyxoviridae</i>
Subfamily	<i>Paramyxovirinae</i>
Genus	<i>Paramyxovirus</i>
Genus	<i>Morbillivirus</i>
Genus	<i>Rubulavirus</i>
Subfamily	<i>Pneumovirinae</i>
Genus	<i>Pneumovirus</i>
Family	<i>Rhabdoviridae</i>
Genus	<i>Vesiculovirus</i>
Genus	<i>Lyssavirus</i>
Genus	<i>Ephemerovirus</i>
Genus	<i>Cytorhabdovirus</i>
Genus	<i>Nucleorhabdovirus</i>
Family	<i>Filoviridae</i>
Genus	<i>Filovirus</i>

図9 モノネガウイルスの最新分類

の HPIV-2 の臨床分離株の F 遺伝子の塩基配列を決定し、進化系統樹を描いて見たところ、HPIV-2 では遺伝型を異にする二つのグループが同時に流行していることが明らかになり、それぞれのグループに異なった病原性を示すウイルスが存在していた。この系統樹から F 遺伝子の進化速度を計算すると、同義置換では  $1.4 \times 10^{-3}$ /site/year、非同義置換では  $0.5 \times 10^{-3}$ /site/year であった。これは H I V やインフルエンザウイルスなどの RNA ウイルスと比較すると少し遅い進化速度であった。

### 8. Mononegavirales の分子進化

パラミクソウイルスのゲノム構造は一本鎖で直鎖状のマイナス鎖 RNA であり、Mononegavirales に属している。Mononegavirales には狂犬病ウイルスなどの

Rhabdovirus が含まれるが、エボラウイルス・マルブルグウイルスなどの Filovirus やボルナウイルスなどもその範疇にはいる。Mononegavirales 全体の分子進化系統樹を NP 蛋白と L 蛋白のアミノ酸配列に基づき作成した(図-8)。Filovirus はニューモウイルスに近く、ボルナウイルスは Rhabdovirus に近い関係が明らかになった<sup>3,8,16,20,22,24,29,31</sup>。今後の研究によりニューモウイルスの分類学的位置は大きく変わる可能性がある。

### 9. まとめ

Mononegavirales についての最新の分類を図-9に示す。Paramyxoviridae のなかに亜型 (Subfamily: Paramyxovirinae と Pneumovirinae) が設けられ、モルビリウイルスの位置が変わり、パラインフルエンザウイルス 1 型、パラインフルエンザウイルス 2 型とと

もに Paramyxovirinae に並記された。パラインフルエンザウイルス 1 型は Paramyxovirus, パラインフルエンザウイルス 2 型は Rubulavirus と命名されている。これらの結果は我々の研究結果と非常によく一致している。ニューモウイルスが依然として Paramyxoviridae—Pneumovirinae に属しているが、将来的には独立した Family になるか Filovirus と近い位置に分類されるかのどちらかに修正されるであろう。

パラミクソウイルスの分子進化について解析していくと、ウイルスがダイナミックな分子進化を遂げていることがよくわかり、そのしづとさが印象に残った。この研究の多数の共同研究者に感謝します。

### 引用文献

(この報告では我々自身の論文に限定した)

- 1) Bando H., K. Kondo, M. Kawano, H. Komada, M. Tsurudome, M. Nishio, and Y. Ito Molecular Cloning and Sequence Analysis Human Parainfluenza Type 4A Virus HN Gene: Its Irregularities on Structure and Activities. *Virology* **175**, 307-312, 1990
- 2) Bando H., M. Kawano, K. Kondo, M. Tsurudome, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Growth Properties and F Protein Cleavage Site Sequence of Naturally Occurring Human Parainfluenza Type 2 Viruses. *Virology* **184**, 87-92 1991
- 3) Higuchi Y., Y. Miyahara, M. Kawano, M. Tsurudome, H. Matsumura, S. Kusagawa, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Sequence Analysis of the Large (L) Protein of Simian Virus 5. *J. Gen. Virology* **73**, 1005-1010, 1992
- 4) Ito Y., M. Tsurudome, M. Hishiyama, and A. Yamada Immunological Interrelationships among Human and Non-Human Paramyxoviruses Revealed by Immunoprecipitation. *J. Gen. Virology* **68**, 1289-1297, 1987
- 5) Kawano M., H. Bando, T. Yuasa, K. Kondo, M. Tsurudome, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Sequence Determination of the Hemagglutinin-Neuraminidase (HN) Gene of Human Parainfluenza Type 2 Virus and the Construction of a Phylogenetic Tree for HN Proteins of All the Paramyxoviruses that Are Infectious to Humans. *Virology* **174**, 308-313, 1990
- 6) Kawano M., H. Bando, M. S. Ohgimoto, K. Kondo, M. Tsurudome, M. Nishio, and Y. Ito Sequence of the Fusion Protein Gene of Human Parainfluenza Type 2 Virus and Its 3 Intergenic Region: Lack of Small Hydrophobic (SH) Gene. *Virology* **178**, 289-292, 1990
- 7) Kawano M., H. Bando, S. Ohgimoto, K. Okamoto, K. Kondo, M. Tsurudome, M. Nishio, and Y. Ito Complete Nucleotide of the Matrix Gene of Human Parainfluenza Type 2 Virus and Expression of the M Protein in Bacteria. *Virology* **179**, 777-784, 1990
- 8) Kawano M., K. Okamoto, H. Bando, K. Kunio, M. Tsurudome, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Characterization of the Human Parainfluenza Type 2 Virus Gene Encoding the L Protein and the Intergenic Sequences. *Nucleic Acid Research* **19**, 2739-2746 1991
- 9) Kawano M., M. Tsurudome, N. Oki, M. Nishio, H. Komada, H. Matsumura, S. Kusagawa, H. Ohta, and Y. Ito Sequence Determination of the P Gene of Simian Virus 41 (SV41): The Presence of Irregular Deletion Near the RNA Editing Sites of Paramyxovirus. *J. Gen. Virology* **74**, 911-916, 1993.
- 10) Komada H., M. Tsurudome, H. Bando, M. Nishio, A. Yamada, M. Hishiyama, and Y. Ito Virus-Specific Polypeptides of Human Parainfluenza Virus Type 4 and Their Synthesis in Infected Cells. *Virology* **171**, 254-259, 1989
- 11) Komada H., M. Tsurudome, M. Ueda, M. Nishio, H. Bando, and Y. Ito Isolation and Characterization of Monoclonal Antibodies to Human Parainfluenza Virus Type 4 and Their Use in Revealing Antigenic Relation between Subtypes 4A and 4B. *Virology* **171**, 28-37, 1989
- 12) Komada H., I. Orstavik, Y. Ito, and E. Norrby Strain Variation in Parainfluenza Virus Type 4. *J. Gen. Virology* **71**, 1581-1583, 1990
- 13) Komada H., E. Klippmark, C. Orvell, R. E. Randall, Y. Ito, and E. Norrby Immunological Relationships between Parainfluenza Virus Type 4 and Other Paramyxoviruses Studied by Use of Monoclonal Antibodies. *Archives of Virology* **116**, 277-283, 1991
- 14) Komada H., S. Kusagawa, C. Orvell, M. Tsurudome, M. Nishio, H. Bando, M. Kawano, H. Matsumura, E. Norrby, and Y. Ito Antigenic Diversity of Human Parainfluenza Virus Type 1 Isolates and Their Immunological Relationship with Sendai Virus Revealed by Using Monoclonal Antibodies. *J. Gen. Virology* **73**, 875-884, 1992
- 15) Komada H., Hisanori Bando, Morihiro Ito, Mitsuo Kawano, Machiko Nishio, Masato Tsurudome, Hisataka Ohta, Noriko Watanabe, Norihisa Ikemura, Shigeru Kusagawa, Xiaojuan Mao, and Yasuhiko Ito Gene Structure of Human Parainfluenza Type 4 A and 4B Virus Fusion Proteins and Antigenicity of the Fusion Proteins Expressed in Mammalian Cells. *J. General Virology* **76**, 3205-3210, 1996
- 16) Kondo K., H. Bando, M. Kawano, M. Tsurudome, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Sequence Analyses and Comparison of Parainfluenza Virus Type 4A and 4B NP Protein Gene. *Virology* **174**, 1-8, 1990
- 17) Kondo K., H. Bando, M. Tsurudome, M. Kawano, M. Nishio, and Y. Ito Sequence Analysis of the Phosphoprotein (P) Genes of Human Parainfluenza Type 4A and 4B and RNA Editing at Transcript of

- the P Gene : The Number of G Residues Added Is Imprecise. *Virology* **178**, 321-326, 1990
- 18) Kondo K., M. Fujii, T. Nakamura, H. Bando, M. Kawano, M. Tsurudome, H. Komada, S. Kusagawa, M. Nishio, and Y. Ito Sequence Characterization of the Matrix Protein Genes of Parainfluenza Type 4A and 4B Viruses. *J. Gen. Virology* **72**, 2283-2287, 1991
- 19) Kusagawa S., H. Komada, X. Mao, M. Kawano, F. Nishikawa, M. Tsurudome, H. Matsumura, H. Ohta, T. Yuasa, M. Nishio, and Y. Ito Antigenic and Molecular Properties of Murayama Virus Isolated from Cynomolgus Monkey : The Virus Is Closely Related to Avian Paramyxovirus Type 2. *Virology* **194**, 828-832, 1993.
- 20) Miyahara K., S. Kitada, M. Yoshimoto, H. Matsumura, M. Kawano, H. Komada, M. Tsurudome, S. Kusagawa, M. Nishio, and Y. Ito Molecular Evolution of Human Paramyxoviruses - Nucleotide Sequence Analyses of the Human Parainfluenza Type 1 Virus NP and M Protein Genes and Construction of Phylogenetic Trees for all the Human Paramyxoviruses-Archives of *Virology* **124**, 255-268, 1992
- 21) Nishio M., M. Tsurudome, H. Bando, and Y. Ito Immunological Relationships between Simian Virus 41 (SV41) and Paramyxoviruses and Evidence of SV41 Infection in Human Populations. *J. Gen. Virology* **71**, 2093-2097
- 22) Ogawa M., N. Mutsuga, M. Tsurudome, M. Kawano, H. Matsumura, S. Kusagawa, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Nucleotide Sequence Analysis of the Simian Virus 41 Gene Encoding the Large (L) Protein and Construction of a Phylogenetic Tree for the L Proteins of Paramyxoviruses. *J. Gen. Virol.* **73**, 2743-2750, 1992
- 23) Ohgimoto S., H. Bando, M. Kawano, K. Okamoto, K. Kondo, M. Tsurudome, M. Nishio, and Y. Ito Sequence Analysis of P Gene of Human Parainfluenza Type 2 Virus : P and Cystein-Rich Proteins Are Translated by Two mRNAs That Differ by Two Nontemplated G Residues. *Virology* **177**, 116-123, 1990
- 24) Tanabayashi K., K. Takeuchi, M. Hishiyama, A. Yamada, M. Tsurudome, Y. Ito, and A. Sugiura Nucleotide Sequence of the Leader and Nucleocapsid Protein Gene of Mumps Virus and Epitope Mapping with in vitro Expressed Nucleocapsid Protein. *Virology* **177**, 124-130, 1990
- 25) Tsurudome M., A. Yamada, M. Hishiyama, and Y. Ito Monoclonal Antibodies against the Glycoproteins of Mumps Virus : Fusion Inhibition by Anti-HN Monoclonal Antibody. *J. Gen. Virology* **67**, 2259-2265, 1986
- 26) Tsurudome M., M. Nishio, H. Komada, H. Bando, and Y. Ito Extensive Antigenic Diversity among Human Parainfluenza type 2 Virus Isolates and Immunological Relationships among Virus Isolates and Immunological Relationships among Paramyxoviruses Revealed by Monoclonal Antibodies Paramyxoviruses Revealed by Monoclonal Antibodies. *Virology* **171**, 38-48, 1989
- 27) Tsurudome M., H. Bando, M. Nishio, Y. Iwamoto, M. Kawano, K. Kondo, H. Komada, and Y. Ito Antigenic and Structural Properties of a Paramyxovirus Simian Virus 41 (SV41) Reveal a Close Relationship with Human Parainfluenza Type 2 Virus. *Virology* **179**, 738-748, 1990
- 28) Tsurudome M., A. Yamada, M. Hishiyama, and Y. Ito Monoclonal Antibodies against the Nucleoprotein of Mumps Virus : Their Binding Characteristics and Cross-Reactivity with Other Paramyxoviruses. *Acta Virologica* **34**, 220-227, 1990
- 29) Tsurudome M., N. Oki, Y. Higuchi, K. Miyahara, M. Yoshimoto, N. Mutsuga, S. Kitada, M. Ogawa, Y. Miyahara, K. Okamoto, M. Kawano, H. Komada, H. Matsumura, S. Kusagawa, M. Nishio, and Y. Ito Molecular Relationships among Human Parainfluenza Virus Type 2, Simian Virus 41 and Simian Virus 5 : Determination of NP Gene Sequence of Simian Viruses 41 and 5. *J. Gen. Virology* **72**, 2289-2292, 1991
- 30) Tsurudome M., H. Bando, M. Kawano, H. Matsumura, H. Komada, M. Nishio, and Y. Ito Transcripts of Simian Virus 41 (SV41) Matrix Gene Are Exclusively Dicistronic with the Fusion Gene Which Is also Transcribed as a Monocistron. *Virology* **184**, 93-100, 1991
- 31) Yuasa T., H. Bando, M. Kawano, M. Tsurudome, M. Nishio, K. Kondo, H. Komada, and Y. Ito Sequence Analyses of the 3' Genome End and NP Gene of Human Parainfluenza Type 2 Virus : Sequence Variation of the Gene-Starting Signal and the Conserved 3' End. *Virology* **179**, 777-784, 1990