

# 1. ロタウイルス

河本 聡志, 谷口 孝喜

藤田保健衛生大学医学部ウイルス・寄生虫学講座

ロタウイルスは、冬季乳幼児嘔吐下痢症の病因ウイルスである。ロタウイルス胃腸炎により、開発途上国を中心に毎年約45万人の乳幼児が死亡している。感染性はきわめて高く、先進国においても、ほぼすべての乳幼児が5歳までに感染し、発症する。1973年にヒトロタウイルスが発見されて以来、ウイルスの粒子構造、遺伝子構造、抗原構造、各ウイルス蛋白質の構造と機能、複製、病態、疫学、進化などが明らかになってきた。また、近年のリバースジェネティクス系の開発、応用により、ロタウイルス研究は新たな展開をみせている。本稿では、ロタウイルス研究に関して最新の知見を交えて紹介したい。

## 1. はじめに

ロタウイルスは1973年に、急性胃腸炎で入院した幼児の十二指腸生検標本中に発見され、その後の研究で、長い間病因が不明であった冬季乳幼児嘔吐下痢症の起因ウイルスであることが示された<sup>1,2)</sup>。1973年以前に既にマウス(EDIM株)<sup>3)</sup>、サル(SA11株)<sup>4)</sup>、ウシ(NCDV株)<sup>5)</sup>の下痢症の病原体として検出されていたこれらのウイルス株もその後すべてロタウイルスに分類された。現在では、きわめて多数の哺乳動物および鳥類に急性胃腸炎を起こすウイルスであることが明らかにされている<sup>6)</sup>。感染性はきわめて高く、1~100個の感染性ウイルス粒子により感染が成立する。したがって、衛生状態をいかに改善してもロタウイルス感染の制御は困難であることから、世界中のほぼすべての乳幼児が5歳までに感染し、発症する。1973年の発見以来の過去40年間の研究によって、ウイルスの粒子構造、遺伝子構造、抗原構造、各ウイルス蛋白質の機能、増殖、病態、疫学、進化などが次々と明らかにされていった。本稿では、ロタウイルス研究に関して最新の知見も含

めて概説したい。

## 2. ロタウイルスの粒子構造と構成蛋白質

ロタウイルス粒子は直径80~100 nmの正20面体構造をとり、コア、内殻、外殻の3層で構成される二重殻粒子である。エンベロープは持たない<sup>6)</sup>(**図1**)。ウイルス粒子内にRNA依存性RNAポリメラーゼ(RdRp)やキャップ合成関連酵素を有する。ウイルス粒子を電子顕微鏡で観察すると、車輪状の形態が特徴的である。ロタウイルスの名は、ウイルス粒子のこのような形態に由来する(ロタ=車輪の意を持つラテン語)<sup>7)</sup>。コアはVP1, VP2, VP3からなり、内殻蛋白質VP6が覆って一重殻粒子を形成し、さらに外殻蛋白質VP7とVP4で覆われて二重殻粒子つまり感染性ウイルス粒子となる。VP7は平滑な粒子表面を、VP4はスパイクを形成する。正20面体粒子の各頂点には穴が存在して粒子内部につながっており、ゲノム複製に必要なヌクレオチドの供給や合成プラス鎖RNA放出のチャネルとして機能する<sup>8,9)</sup>(**図1**)。

## 3. 抗原構造

ロタウイルスには、内殻蛋白質VP6について血清学的な交差反応を示さない8種の群(A~H)が存在する<sup>10)</sup>。これらのうち、ヒトに感染するのはA~C群の3種類であるが、A群の分布頻度、重症度が最も高い。外殻蛋白質VP7とVP4は独立した中和抗原を有し、それぞれの蛋白質によって規定される血清型をGタイプ(Glycoprotein)およびPタイプ(Protease-sensitive)という<sup>6)</sup>。VP7の抗原性が極めて強く、一般にビリオンの抗原性はGタイ

### 連絡先

〒470-1192

愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98

藤田保健衛生大学医学部ウイルス・寄生虫学講座

TEL: 0562-93-2486

FAX: 0562-93-2649

E-mail: satoshik@fujita-hu.ac.jp

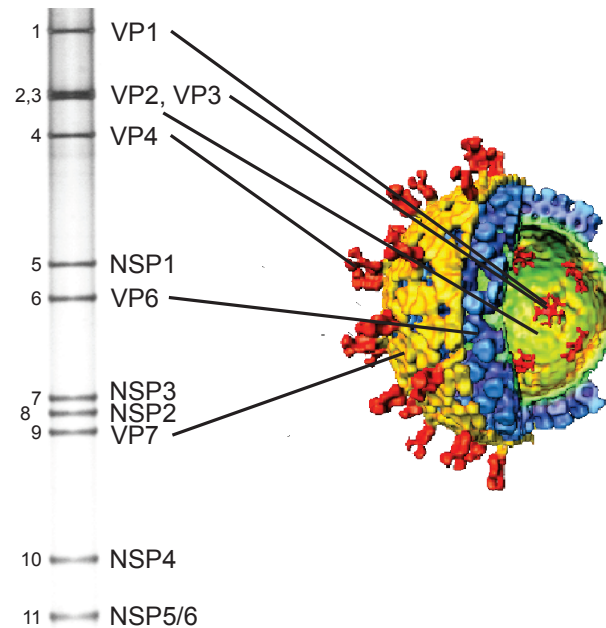


図1 ロタウイルスの分節 dsRNA ゲノムのポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) 像とクライオ電子顕微鏡法による電子密度データをコンピュータ解析して得られた感染性ロタウイルス粒子 (二重殻粒子) のモデル

ロタウイルスゲノムは6種のウイルス構造蛋白質 (VP1~4, VP6, VP7) と6種の非構造蛋白質 (NSP1~6) をコードする。感染性ロタウイルス粒子は3層構造を有する。VP1, VP2, VP3 からなるコアは内殻蛋白質 VP6 に覆われて一重殻粒子を形成し、さらに外殻はVP7の平滑な表面とVP4のスパイクが取り囲み、二重殻粒子となる。(Baylor College of Medicine, Prasad 博士提供)

プに一致する。最近では、塩基配列による遺伝子型も併用されており、これまでに、Gタイプで27種 (G1~27)、Pタイプで37種 (P[1]~[37]) が報告されている<sup>11,12)</sup>。それぞれの動物種において高頻度に検出されるロタウイルス遺伝子型が存在する。さらに、VP7およびVP4遺伝子分節以外の9遺伝子分節にも多様性が認められるので、全11遺伝子分節 VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 を Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx で表す<sup>11)</sup>。研究によく用いられるヒト KU 株は G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1、ヒト DS-1 株は G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 となる。最近、このような全塩基配列に基づく分子疫学的研究が増えつつあり、ロタウイルスの分子進化の様態が包括的に理解できるようになってきた<sup>13)</sup>。

#### 4. ゲノム構造

ロタウイルスはレオウイルス科に属し、11本の2本鎖RNA (double-stranded RNA: dsRNA) をゲノムとして、コア内部に格納されている。ゲノムは6種のウイルス構造蛋白質 (VP1~4, VP6, VP7) と6種の非構造蛋白質 (NSP1~6) をコードする (表1)。各分節RNAは、両末端にある非翻訳領域とそれらに挟まれた翻訳領域とで構成され、長さは664~3302塩基である (表1)。非翻訳領域は短く、

5'末端側が9-49塩基、3'末端側で17-181塩基である。プラス鎖RNAは5'末端がキャップ構造 ( $m^7GpppG^{(m)}GPy$ ) を有するが、3'末端はポリAを持たない<sup>6)</sup>。11本の分節RNA両末端の配列は保存されており、5'-GGCU/AU/A...UGUGACC-3'となっている。さらに、両末端の配列は相補的であることから、プラス鎖RNAはパンハンドル構造をなすと考えられている<sup>14,15)</sup>。こうしたロタウイルスRNAの末端構造はレオウイルス科に属する他のウイルスや、ゲノムとして分節一本鎖RNAを有するアレナウイルス科、オルソミクソウイルス科、ブニヤウイルス科にも共通してみられ、分節RNAゲノムの複製、転写、翻訳、集合、エンカプシデーションの際の重要なシグナルを含んでいると考えられている。各遺伝子分節は、それぞれ1つのオープンリーディングフレーム (open reading frame: ORF) を有する。ただし、セグメント11は例外的に out-of-frame の2つのORF (NSP5およびNSP6) を有する。総塩基数は、約18,600である。各ゲノム分節とウイルス蛋白質との対応は表1に示す。

#### 5. 増殖サイクル

ロタウイルスの増殖サイクルは、増殖効率の悪いヒトロタウイルス株で18~22時間、効率の良いサル SA11 株では10~12時間である。全ての増殖過程は細胞質で起こる

表1 ヒトロタウイルス KU 株の遺伝子とコード蛋白質

ゲノム分節	塩基数 (アミノ酸数)	コード蛋白質	感染性ウイルス粒子における分子数	コード蛋白質の構造と機能
1	3,302 (1,088)	VP1	12	コア蛋白質, RdRp 活性, VP3 と複合体
2	2,723 (892)	VP2	120	コア蛋白質, VP1 の RdRp 活性に必要
3	2,591 (835)	VP3	12	コア蛋白質, グアニリルトランスフェラーゼ活性, メチルトランスフェラーゼ活性, 2',5'-ホスホジエステラーゼ活性, VP1 と複合体
4	2,359 (775)	VP4	180	外殻スパイク蛋白質, レセプター結合, 細胞膜貫通, トリプシンによる切断活性化, P タイプ中和抗原
5	1,564 (486)	NSP1	0	非構造蛋白質, IFN アンタゴニスト, E3 リガーゼ, RNA 結合能
6	1,356 (397)	VP6	780	内殻蛋白質, グループ抗原, サブグループ特異的抗原, 転写に必要
7	1,075 (310)	NSP3	0	非構造蛋白質, ウイルス mRNA の優先的翻訳, RNA 結合能
8	1,058 (317)	NSP2	0	非構造蛋白質, viroplasm 形成, NTPase, NDP キナーゼ, dsRNA 複製に関与
9	1,062 (326)	VP7	780	外殻蛋白質, 糖蛋白質, G タイプ中和抗原
10	750 (175)	NSP4	ごく僅か	非構造蛋白質, 糖蛋白質, ER 膜上で一重殻粒子の細胞内レセプター, エンテロトキシン活性
11	664 (197)	NSP5	0	非構造蛋白質, viroplasm 形成, リン酸化糖蛋白質, RNA 結合能
	664 (92)	NSP6	0	非構造蛋白質, NSP5 と結合

(図2). 細胞質内に局在する電子密度の高い封入体 (viroplasm) の重要性が多くの研究で示されている<sup>16-18)</sup>. NSP2 と NSP5 を中心に形成される viroplasm は, ロタウイルスの複製にきわめて重要である.

ロタウイルスは, 細胞表面のレセプターに結合して感染を開始する. ロタウイルスの吸着・侵入過程は以下のように複数のステップからなる<sup>19)</sup>. ロタウイルスが感染性を獲得するには, 腸管に存在するトリプシンによって外殻スパイク蛋白質 VP4 が VP8\* と VP5\* に開裂 (切断活性化) している必要がある<sup>20)</sup>. ウイルス粒子表面でこれら VP8\* と VP5\* は非共有結合しており (VP8\*-VP5\* ユニット), さらにこのユニットは三量体を形成する. VP8\* がまずシアル酸を含む分子と接触し, 次に VP5\* と VP7 がインテグリン ( $\alpha 2 \beta 1$ ,  $\alpha \nu \beta 3$ ,  $\alpha x \beta 2$ ,  $\alpha 4 \beta 1$ )<sup>21-24)</sup> や heat shock cognate protein 70 (Hsc70)<sup>25, 26)</sup> と結合することで, 直接侵入あるいはエンドサイトーシスで細胞内へ侵入すると考えられている<sup>6, 24)</sup>. このように, ロタウイルス感染においては, シアル酸を含む分子が第一レセプター, インテグリンなどがコレセプター (第二レセプター) として機能する. 一方で, ごく最近, ロタウイルスの一部は, 第一レセプターとして血液型抗原 (histo blood group antigen: HBGA) を用いることができると報告されている<sup>27-29)</sup>.

このレセプター結合以降のロタウイルスの細胞侵入過程は, まだ十分に解明されていないが, 以下の流れが考えられている. VP4 はレセプターに結合することで, 分子内のダイナミックな構造変化を起こし, それまで VP8\* の裏側

に位置していた VP5\* の疎水性領域が表面に露出することで細胞膜を貫通し, ロタウイルスは細胞内に侵入すると考えられている<sup>8, 30, 31)</sup>. また, ロタウイルスの一部は, 細胞侵入の際に細胞内膜輸送系, すなわち ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) 分子群を利用している<sup>32, 33)</sup>. 細胞侵入の際に外殻蛋白質 VP7 および VP4 は除去される (脱殻). VP7 が外れることで, 細胞質に放出された一重殻粒子の内殻蛋白質 VP6 の再配置が起こり, ゲノム転写が開始される (図2)<sup>34)</sup>.

一重殻粒子は RdRp である VP1, グアニリルトランスフェラーゼ (キャッピング酵素) である VP3, コア構造維持の足場となる VP2, そして内殻蛋白質 VP6 からなる. このように, ロタウイルスは粒子内にゲノム転写および複製に必要な酵素類を保有している. 転写の過程は, この一重殻粒子内で行われる<sup>6)</sup>. コア粒子内の dsRNA ゲノムのマイナス鎖を鋳型として, 完全長のプラス鎖 RNA が転写される. 合成されたプラス鎖 RNA は, ウイルス粒子表面のチャンネルから放出してくると考えられている<sup>35)</sup>. 細胞質に放出されたプラス鎖 RNA は, ウイルス蛋白質合成の mRNA となるとともに, 新生のコア粒子内に取込まれてゲノム dsRNA 複製の鋳型ともなる. 転写においては, ゲノム dsRNA は環状構造をとり, 転写が次々と回転するように進むと考えられている<sup>14)</sup>. 感染後期では, 新たに形成した一重殻粒子からのプラス鎖 RNA 転写 (二次転写) が始まり, 細胞内のプラス鎖 RNA 量は著しく増加する<sup>36, 37)</sup>.

ロタウイルスがコードする蛋白質の多くは遊離型リボ

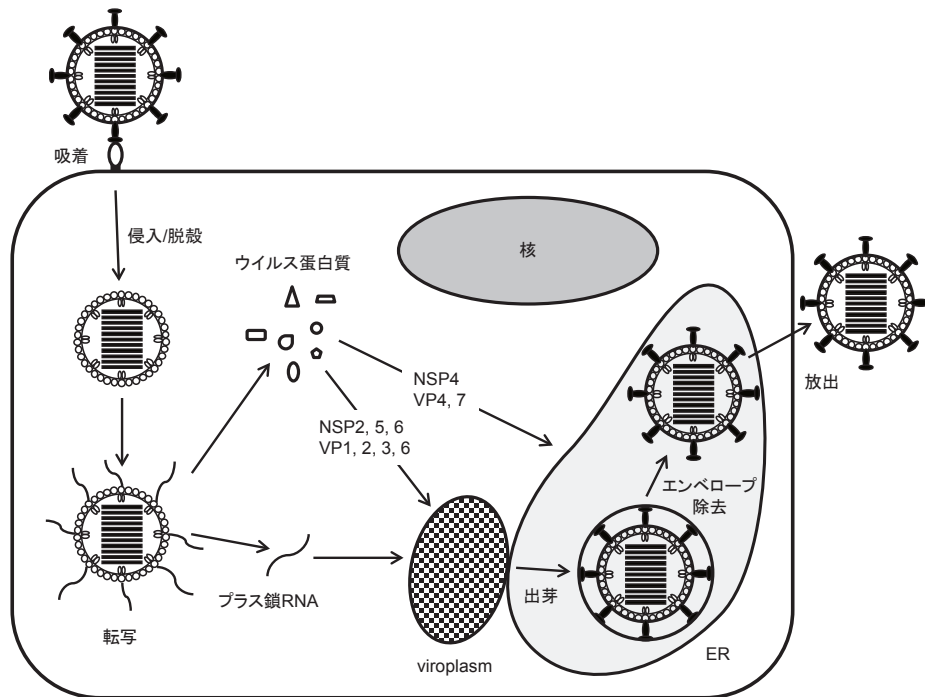


図2 ロタウイルスの複製サイクル

二重殻粒子が細胞表面レセプターに結合する（吸着）。次いで、ウイルス粒子は直接侵入あるいはエンドサイトーシスで細胞内に侵入する。この際に、外殻蛋白質であるVP7とVP4は除去される（侵入/脱殻）。細胞質内に放出された一重殻粒子はプラス鎖RNA転写を開始する。このプラス鎖RNAは、ウイルス蛋白質合成のmRNAとなるとともに、ゲノムdsRNA複製の鋳型ともなる。プラス鎖RNAとウイルス蛋白質がviroplasm内で集合して、一重殻粒子が形成される。この際に、新生のコア粒子内では、取込まれたプラス鎖RNAを鋳型としたdsRNA複製が行われる。一重殻粒子は、隣接するER膜上のNSP4を細胞内レセプターとしてER内へ出芽するが、この過程で一時的にエンベロープを被る。エンベロープはER内で消失するが、この出芽からエンベロープ除去の過程で、一重殻粒子は外殻蛋白質VP7とVP4で覆われて二重殻粒子となり、細胞の破壊によって細胞外へ放出される。（文献53を改変）

ゾームで合成されるが、糖蛋白質であるVP7とNSP4は膜結合型リボゾームで合成される<sup>6)</sup>。VP7のシグナルペプチドは小胞体（endoplasmic reticulum: ER）膜を透過後に切断を受けるが、NSP4のシグナルペプチドは切断されない。ロタウイルスmRNAは、5'末端にキャップ構造を有するが3'末端にポリAを欠く構造を持つが、NSP3の働きによって効率的な翻訳を受けることができる。NSP3のN末端側領域が、mRNAの3'末端にあるコンセンサス配列5'-UGACC-3'と結合する<sup>38)</sup>とともに、NSP3のC末端側領域はeukaryotic initiation factor 4G (eIF4G)と結合して、mRNAは環状となる<sup>39,40)</sup>。つまり、NSP3がpolyA binding protein (PABP)の代わりに、ウイルスmRNAの環状化に働く。さらに、NSP3-eIF4G間の親和性はPABP-eIF4G間のそれよりも強いために、宿主mRNAの翻訳は著しく抑制され、ウイルスmRNAの翻訳が優先的に進むことになる<sup>41-43)</sup>。

ウイルスdsRNAゲノムの複製はviroplasm内で行われる。viroplasmの形成は、NSP2とNSP5を中心にVP1, VP2, VP3, NSP2, NSP5, NSP6で構成されるが、脂質

滴 (lipid droplet) やチューブリンといった宿主因子も含まれている<sup>44,45)</sup>。さらに、ユビキチン-プロテアソーム系およびオートファジーの関連分子がviroplasm形成とロタウイルス複製には必要である<sup>46-48)</sup>。VP1, VP2, VP3で構成される新生のコア粒子内に取込まれたプラス鎖RNAは、1回だけRdRpによるマイナス鎖RNA合成の鋳型となり、dsRNAゲノムが複製される。VP2はこのVP1のレプリカーゼ活性に必要である<sup>49)</sup>。プラス鎖RNAの3'末端コンセンサス配列(5'-UGUGACC-3')がマイナス鎖RNA合成に必須のcisエレメントとして機能する<sup>50,51)</sup>。さらに、3'末端コンセンサス配列の上流と5'末端には、dsRNA複製の促進エレメントが存在している<sup>14,50,51)</sup>。最終的に1個のロタビリオンには11本の分節dsRNAが1本ずつパッケージングされているので、コア粒子によるプラス鎖RNAの選択はきわめて特異性が高く、インフルエンザウイルスのように各分節にパッケージングシグナルが存在していると考えられるが、後述するリバーシジェネティクス系の展開が遅れているために、そのメカニズムは未だわかっていない。

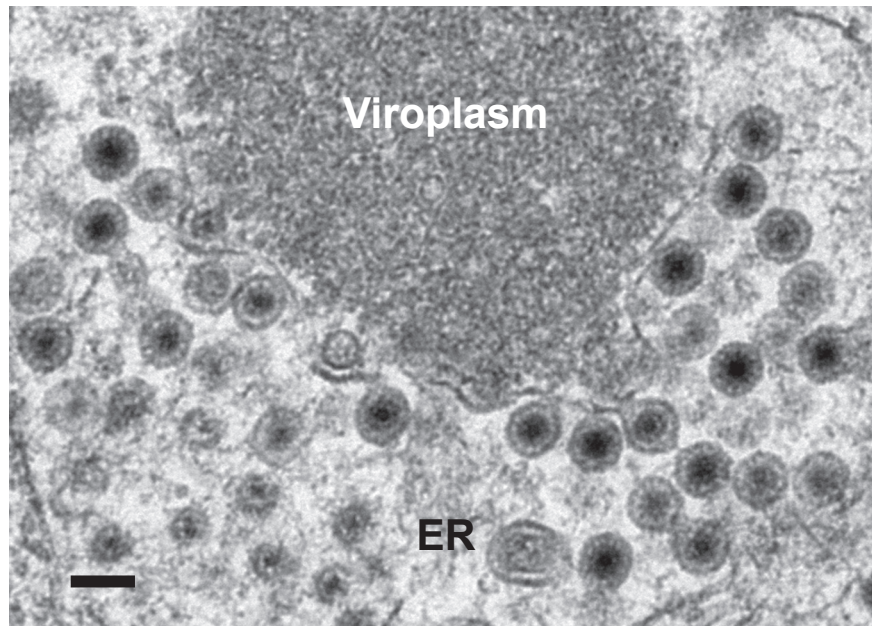


図3 ロタウイルス感染 MA104 細胞内の電子顕微鏡像

上部にある電子密度の高い viroplasm で集合した一重殻粒子が、下部の隣接する ER 内へ出芽している様子が認められる。出芽直後の二重殻粒子が一時的にエンベロープを被っている。スケールは 100 nm。(藤田保健衛生大学, 井手富彦助手提供)

viroplasm 内で集合した一重殻粒子は、隣接する ER 膜上で発現する NSP4 を細胞内レセプターとして ER 内へ出芽することで、一時的にエンベロープを被るというロタウイルスに特徴的な過程がある<sup>6, 52, 53</sup> (図 2, 3)。エンベロープは ER 内で消失するが、この出芽からエンベロープ除去の過程で、一重殻粒子は外殻蛋白質 VP7 と VP4 で覆われて二重殻粒子つまり感染性ウイルス粒子となり、感染細胞の破壊に伴い、再び細胞外に放出される<sup>6</sup>。

このように、ロタウイルス複製サイクルにおいて dsRNA ゲノムは常にコア粒子内に格納されているが、最近の研究から、実際には dsRNA ゲノムが viroplasm 外の細胞質内で認められること、さらに、この dsRNA がインターフェロン (IFN) 応答といった宿主の自然免疫機構を活性化していることがわかった<sup>54, 55</sup>。このことから、ロタウイルス感染細胞内では、一部のウイルス粒子の崩壊による dsRNA ゲノムの遊離と宿主側認識が起きていると考えられる。一方で、ロタウイルスがコードする NSP1 は、宿主の IFN 産生誘導に重要な interferon regulatory factor 3 (IRF3) の活性化を阻害する因子であることがわかっている<sup>56-59</sup>。さらに NSP1 は、 $\beta$ -transducin repeat containing protein ( $\beta$ -TrCP0)<sup>60, 61</sup>, melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) /mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS)<sup>59, 62, 63</sup>, がん抑制遺伝子産物 p53<sup>64</sup>, TNF receptor associated factor 2 (TRAF2)<sup>65</sup>, interferon regulatory factor 5 (IRF5), interferon regulatory factor 7 (IRF7)<sup>66</sup>とも結合して、やはり IFN 応答を負に制御する。さらに、

ごく最近、IFN 刺激によって誘導される抗ウイルス活性の発現に重要な RNase L の活性化を VP3 が阻害することが報告された<sup>67</sup>。こうして、ロタウイルスは宿主の自然免疫機構の活性化に関わるシグナル分子を幅広く標的とすることで、巧みに宿主の IFN 系を回避している。

## 6. 病態

経口的に侵入したロタウイルスは、小腸絨毛の先端部約 1/3 の成熟上皮細胞で増殖する。陰窩 (クリプト) の底部に存在する小腸上皮幹細胞には感染しない。感染後、絨毛は背が低くなり、幅が広がって吸収面積が著しく減り、また、微絨毛の配列の乱れや欠落などの組織病変を起こす<sup>6</sup>。こうして、小腸の水の吸収能力が著しく障害され下痢が起こる<sup>68, 69</sup>。しかし、小腸上皮細胞は再生が早く、クリプトからの新生と絨毛先端部での脱落により 3~6 日で小腸絨毛の先端部は修復する。一方で、動物を用いたロタウイルス感染実験では、こうした小腸における病理学的変化が現れる前に下痢は始まる<sup>70</sup>。その原因として、ウイルス蛋白質として初めて見出された、NSP4 の腸管毒素 (エンテロトキシン) 活性が考えられている<sup>6, 71, 72</sup>。NSP4 は、ER 内の  $Ca^{2+}$  イオンを細胞質に放出させることで、細胞内の  $Ca^{2+}$  イオン濃度を上昇させ、結果として腸管腔からの  $Na^+$  や  $H_2O$  の吸収が阻害される。しかし、アデニル酸シクラーゼやグアニル酸シクラーゼは増加せず、コレラ毒素などの細菌のエンテロトキシンとは作用システムが異なる。さらに、ロタウイルス感染が腸管神経系を刺激するこ

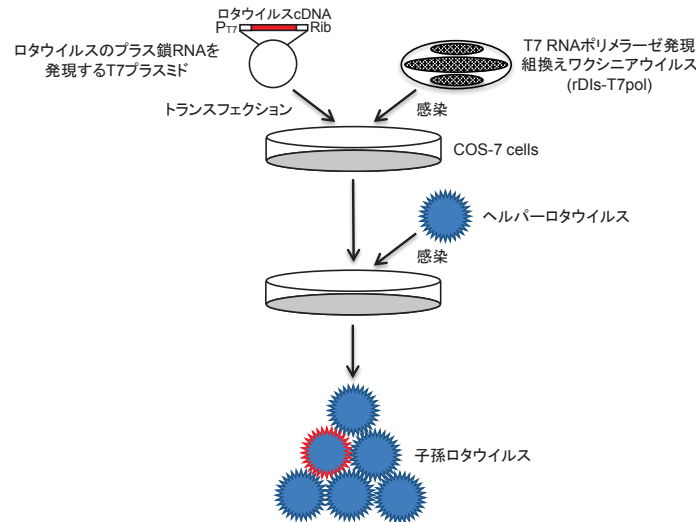


図4 ロタウイルスにおけるリバースジェネティクス系

あらかじめ T7 RNA ポリメラーゼを発現する組換えワクシニアウイルス (rDis-T7pol) を感染させた COS-7 細胞に、T7 RNA ポリメラーゼプロモーター下流にロタウイルス遺伝子を配置した T7 プラスミドを導入し、さらにこの細胞にヘルパーロタウイルスを重感染させる。子孫ウイルスの中から cDNA 由来の分節 dsRNA をゲノムとして有する組換えロタウイルスを選択する。R<sub>T7</sub>、Rib はそれぞれ T7 RNA ポリメラーゼプロモーター、D 型肝炎ウイルスリボザイムを示す。(文献 90 から引用)

とも下痢の誘発に関与する<sup>73)</sup>。このように、複数のメカニズムにより下痢が起こる。

ロタウイルス感染症は、局所感染の代表とされてきたが、急性期における抗原血症、ウイルス血症が明らかとなり<sup>74, 75)</sup>、急性胃腸炎以外の疾患との関連性も示唆されている<sup>76, 77)</sup>。肝炎、腎炎、赤血球貪食性リンパ組織サイトーシス、播種性血管内凝固症候群 (IDC)、そして、脳炎や脳症などの中枢神経疾患などである<sup>79)</sup>。

#### 7. ロタウイルスゲノムの多様性とそのメカニズム

ロタウイルスゲノムは多様性を有しており、ポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) による各セグメントの移動度の違いで容易に検出される。この多様性は、点変異 (point mutation) の蓄積、リアソートメント (reassortment: 再集合)、リアレンジメント (rearrangement: 再編)、遺伝子内組換え (intragenic recombination) の4つのメカニズムによって生じる<sup>13)</sup>。

リアソートメントは、分節ゲノムを有するウイルスに共通する重要なゲノム多様性獲得のメカニズムである。これは、1つの細胞に2つ以上の異なるウイルス株が同時感染した場合に起こり、各ウイルス株由来の各セグメントを様々な組合せで有するリアソータント (reassortant: 遺伝子再集合体) が産生される<sup>79)</sup>。特に、近縁のウイルス株間ではより起こりやすい。in vitro では、高い感染価で同時に培養細胞に感染させると高頻度で起こる。自然界においても頻度は低いもののリアソートメントが起きており、特に、発展途上国でヒトから分離されるウイルス株の

中には、ヒトロタウイルス株と動物ロタウイルス株間のリアソータントが多数見出されており<sup>80)</sup>、今後、インフルエンザウイルスで見られるような、リアソータント株による深刻な大流行を起こす株が出現する可能性は否定できない。

リアレンジメントは、各遺伝子分節における塩基配列の部分的な重複や欠失により起こる<sup>81)</sup>。リアレンジメントを起こしたウイルス株の分節 dsRNA を PAGE 解析すると、変異を有したセグメントが通常的位置にはなく、移動度が異常に小さくか大きくなる。in vitro では、高い感染価で培養細胞を用いて継代すると容易に起こる<sup>82)</sup>。これまでに、非構造蛋白質をコードするセグメントを中心に、VP6、NSP1-5/6 遺伝子でリアレンジメントが報告されている<sup>83)</sup>。in vivo では、免疫不全児における慢性感染においてしばしば検出される<sup>84, 85)</sup>が、免疫能が正常な小児および動物 (ブタ、ウシ、ウサギ) においてもみられる<sup>81, 86, 87)</sup>。リアレンジメント株では、5' および 3' 末端領域の配列は保持されており、一般的に感染性は影響を受けていない。しかしながら、リアレンジメントを起こしたゲノム分節の中には、野生型の同一ゲノム分節に対して、優先的あるいは非優先的に新生のコアへ取込まれるものがある<sup>83, 88)</sup>。また、ロタウイルス粒子内に1,800塩基は余分にパッケージングできることが明らかになっている (谷口ら, 未発表)。

最近、ロタウイルスのゲノム多様性が生じる更なるメカニズムの1つとして、宿主動物種の壁を越えたロタウイルス伝播 (interspecies transmission) の証拠も数多く報告されてきている<sup>80)</sup>。

## 8. リバースジェネティクス

ロタウイルス研究では、個々のウイルス遺伝子をクローニングして、それぞれを培養細胞に発現させることや、リアソータントの利用などといった従来のフォワードジェネティクスの手法が用いられ、多くの知見が得られてきた。しかし、各々のウイルス遺伝子ごとに得られた情報を単純に総和しても、実際のウイルス増殖や病原性発現の機構を理解することはできない。ウイルスを自己複製する存在として真に理解するためには、感染性ウイルスでの検証が必要不可欠である。そこで、ウイルスゲノムへ任意の変異を導入することで、感染性ウイルスを自由に設計し作製することができるリバースジェネティクスの研究手法が理想的である<sup>89,90)</sup>。

ロタウイルスにおいても、世界中の主要な研究室でリバースジェネティクス系の開発の試みが10余年の間、精力的に行われたにもかかわらず、そのゲノム構造の複雑さゆえか、如何なる進歩も報告されていなかった。ようやく2006年に私たちの研究室において、ロタウイルスでは初めてのリバースジェネティクス系の開発に成功した<sup>91)</sup> (図4)。この系は、ヘルパーウイルスを必要とする初期的なリバースジェネティクス系ではあるものの、それまで不可能であったcDNA由来の分節dsRNAゲノムを持つ組換えロタウイルスの作製を可能とした。この系を応用することで、VP4上に異なる血清型由来の交差反応性中和エプトープをキメラに発現する組換えロタウイルスおよび、ロタウイルス感染性の獲得に重要な役割を果たすVP4のトリプシン切断領域にフェーリン様プロテアーゼ認識配列を導入した組換えロタウイルスの作製が報告されている<sup>92-95)</sup>。この系の標的遺伝子はVP4のみであったが、回収ウイルスの中から組換えウイルスを選択するための条件を工夫することで、NSP2<sup>96)</sup> および NSP3<sup>97)</sup> にもこの系を適用可能であることが報告されている。一方で、現在の系はヘルパーウイルスを用いるため、回収ウイルスの中から組換えウイルスを単離するための強力な選択条件が必要であり、その条件が確立されているのは、11本の遺伝子分節のうち3本に過ぎない。また、ゲノムへの変異導入で増殖能が大きく低下した組換えウイルスの単離は困難であることから、いまだロタウイルスゲノムを自由自在に改変できる状態にはない。そこで、ヘルパーウイルスを必要としないリバースジェネティクス系の開発が強く望まれている。ロタウイルスと同じレオウイルス科に属し、いずれも10本のdsRNA分節をゲノムとする、哺乳類レオウイルス<sup>98)</sup>、ブルータンクウイルス<sup>99)</sup> およびアフリカ馬疫ウイルス<sup>100)</sup> においてヘルパーウイルスフリーのリバースジェネティクス系の確立が報告されたことから、世界中の多くの研究室がこれらの系をロタウイルスに適用するべく全力を挙げているものの、いまだ成功には至っていない。ヘルパーウイ

ルスフリーのリバースジェネティクス系を確立するためには、従来の実験手法と現在のヘルパーウイルスを用いるリバースジェネティクス系を駆使することで、ロタウイルス複製に関する知見をより一層深めることが必要であるように思われる<sup>90)</sup>。

## 9. おわりに

ロタウイルス研究では、1973年にヒトロタウイルスが発見されてからの約40年間で多くの重要なウイルス学的知見が蓄積されてきた。それら研究の成果として、2006年に認可された2種の弱毒経口ロタウイルスワクチン(Rotarix, RotaTeq)の優れた有効性が報告されている<sup>101)</sup>。しかしながら、これらワクチン株の弱毒の分子基盤は明らかではない。さらに、11本の分節dsRNAが1セットでウイルス粒子にパッケージングされるメカニズムはどうなっているのか、viroplasm内でウイルス遺伝子とその産物の相互作用はどのようになっているのか、その際に宿主因子はどのように関与しているのか、そしてER内で一時的にエンベロープを被り、その後消失する過程はどのようになっているのかなど、ロタウイルスには明らかにしなければならない謎が多く残されている。今後、任意にロタウイルスを設計しうる技術を確立することで、ロタウイルス増殖過程や病原性発現機構の詳細を明らかにしていくことは、ロタウイルス感染症の制御にとって不可欠であると考えられる。

## 参考文献

- 1) Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ.: Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 2:1281-1283, 1973.
- 2) Flewett TH, Bryden AS, Davies H.: Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 2:1497, 1973.
- 3) Adams WR, Kraft LM.: Epizootic diarrhea of infant mice: identification of the etiologic agent. *Science* 141:359-360, 1963.
- 4) Malherbe H, Harwin R.: The cytopathic effects of vervet monkey viruses. *S Afr Med J* 37:407-411, 1963.
- 5) Mebus CA, Underdahl NR, Rhodes MB, Twiehaus MJ.: Further studies on neonatal calf diarrhea virus. *Proc Annu Meet US Anim Health Assoc* 73:97-99, 1969.
- 6) Estes MK, Greenberg HB.: Rotaviruses. In: *Fields Virology*. 6th ED. Knipe DM, Howley PM (Ed.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 1347-1401, 2013.
- 7) Flewett TH, Bryden AS, Davies H, Woode GN, Bridger JC, Derrick, JM: Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet* 2:61-63, 1974.
- 8) Settembre EC, Chen JZ, Dormitzer PR, Grigorieff N, Harrison SC.: Atomic model of an infectious rotavirus particle. *EMBO J* 30:408-416, 2011.
- 9) Estrozi LF, Settembre EC, Goret G, McClain B, Zhang

- X, Chen JZ, Grigorieff N, Harrison SC.: Localization of the dsRNA-dependent polymerase, VP1, in rotavirus particles. *J Mol Biol* 425:124-132, 2013.
- 10) Matthijssens J, Otto PH, Ciarlet M, Desselberger U, Van Ranst M, Johne R.: VP6-sequence-based cutoff values as a criterion for rotavirus species demarcation. *Arch Virol* 157:1177-1182, 2012.
  - 11) Matthijssens J, Ciarlet M, McDonald SM, Attoui H, Banyai K, Brister JR, Buesa J, Esona MD, Estes MK, Gentsch JR, Iturriza-Gomara M, Johne R, Kirkwood CD, Martella V, Mertens PP, Nakagomi O, Parreno V, Rahman M, Ruggeri FM, Saif LJ, Santos N, Steyer A, Taniguchi K, Patton JT, Desselberger U, Van Ranst M.: Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch Virol* 156:1397-1413, 2011.
  - 12) Trojnar E, Sachsenroder J, Twardziok S, Reetz J, Otto PH, Johne R.: Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses. *J Gen Virol* 94:136-142, 2013.
  - 13) Ghosh S, Kobayashi N.: Whole-genomic analysis of rotavirus strains: current status and future prospects. *Future Microbiol* 6:1049-1065, 2011.
  - 14) Tortorici MA, Shapiro BA, Patton JT.: A base-specific recognition signal in the 5' consensus sequence of rotavirus plus-strand RNAs promotes replication of the double-stranded RNA genome segments. *RNA* 12:133-146, 2006.
  - 15) Li W, Manktelow E, von Kirchbach JC, Gog JR, Desselberger U, Lever AM.: Genomic analysis of codon, sequence and structural conservation with selective biochemical-structure mapping reveals highly conserved and dynamic structures in rotavirus RNAs with potential cis-acting functions. *Nucleic Acids Res* 38:7718-7735, 2010.
  - 16) Silvestri LS, Taraporewala ZF, Patton JT.: Rotavirus replication: plus-sense templates for double-stranded RNA synthesis are made in viroplasm. *J Virol* 78:7763-7774, 2004.
  - 17) Vascotto F, Campagna M, Visintin M, Cattaneo A, Burrone OR.: Effects of intrabodies specific for rotavirus NSP5 during the virus replicative cycle. *J Gen Virol* 85:3285-3290, 2004.
  - 18) Campagna M, Eichwald C, Vascotto F, Burrone OR.: RNA interference of rotavirus segment 11 mRNA reveals the essential role of NSP5 in the virus replicative cycle. *J Gen Virol* 86:1481-1487, 2005.
  - 19) López S, Arias CF.: Early steps in rotavirus cell entry. *Curr Top Microbiol Immunol* 309:39-66, 2006.
  - 20) Estes MK, Graham DY, Mason BB.: Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity: molecular mechanisms. *J Virol* 39:879-888, 1981.
  - 21) Coulson BS, Londrigan SL, Lee DJ.: Rotavirus contains integrin ligand sequences and a disintegrin-like domain that are implicated in virus entry into cells. *Proc Natl Sci Acad Sci USA* 94:5389-5394, 1997.
  - 22) Graham KL, Halasz P, Tan Y, Hewish MJ, Takada Y, Mackow ER, Robinson MK, Coulson BS.: Integrin-using rotaviruses bind alpha2beta1 integrin alpha2 I domain via VP4 DGE sequence and recognize alphaX-beta2 and alphaVbeta3 by using VP7 during cell entry. *J Virol* 77:9969-9978, 2003.
  - 23) Zárate S, Romero P, Espinosa R, Arias CF, López S.: VP7 mediates the interaction of rotaviruses with integrin alphavbeta3 through a novel integrin-binding site. *J Virol* 78:10839-10847, 2004.
  - 24) Gutiérrez M, Isa P, Sánchez-San Martín C, Pérez-Vargas J, Espinosa R, Arias CF, López S.: Different rotavirus strains enter MA104 cells through different endocytic pathways: the role of clathrin-mediated endocytosis. *J Virol* 84:9161-9169, 2010.
  - 25) Guerrero CA, Bouyssouade D, Zárate S, Isa P, López T, Espinosa R, Romero P, Méndez E, López S, Arias CF.: Heat shock cognate protein 70 is involved in rotavirus cell entry. *J Virol* 76:4096-4102, 2002.
  - 26) Zárate S, Cuadras MA, Espinosa R, Romero P, Juárez KO, Camacho-Nuez M, Arias CF, López S.: Interaction of rotaviruses with Hsc70 during cell entry is mediated by VP5. *J Virol* 77:7254-7260, 2003.
  - 27) Hu L, Crawford SE, Czako R, Cortes-Penfield NW, Smith DF, Le Pendu J, Estes MK, Prasad BV.: Cell attachment protein VP8\* of a human rotavirus specifically interacts with A-type histo-blood group antigen. *Nature* 485:256-259, 2012.
  - 28) Huang P, Xia M, Tan M, Zhong W, Wei C, Wang L, Morrow A, Jiang X.: Spike protein VP8\* of human rotavirus recognizes histo-blood group antigens in a type-specific manner. *J Virol* 86:4833-4843, 2012.
  - 29) Ramani S, Cortes-Penfield NW, Hu L., Crawford SE, Czako R, Smith DF, Kang G, Ramig RF, Le Pendu J, Prasad BV, Estes MK.: The VP8\* domain of neonatal rotavirus strain G10P[11] binds to type II precursor glycans. *J Virol* 87:7255-7264, 2013.
  - 30) Kim IS, Trask SD, Babyonyshev M, Dormitzer PR, Harrison SC.: Effect of mutations in VP5 hydrophobic loops on rotavirus cell entry. *J Virol* 84:6200-6207, 2010.
  - 31) Trask SD, Kim IS, Harrison SC, Dormitzer PR.: A rotavirus spike protein conformational intermediate binds lipid bilayers. *J Virol* 84:1764-1770, 2010.
  - 32) Silva-Ayala D, López T, Gutiérrez M, Perrimon N, López S, Arias CF.: Genome-wide RNAi screen reveals a role for the ESCRT complex in rotavirus cell entry. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:10270-10275, 2013.
  - 33) Diaz-Salinas MA, Silva-Ayala D, López S, Arias CF.: Rotaviruses reach late endosomes and require the cation-dependent mannose-6-phosphate receptor and the activity of cathepsin proteases to enter the cells. *J Virol* 88:4389-4402, 2014.
  - 34) Libersou S, Siebert X, Ouldali M, Estrozi LF, Navaza J, Charpilienne A, Garnier P, Poncet D, Lepault J.: Geometric mismatches within the concentric layers of rotavirus particles: a potential regulatory switch of viral particle transcription activity. *J Virol* 82:2844-2852, 2008.
  - 35) Prasad BV, Rothnagel R, Zeng CQ, Jakana J, Lawton JA, Chiu W, Estes MK.: Visualization of ordered



- genomic RNA and localization of transcriptional complexes in rotavirus. *Nature* 382:471-473, 1996.
- 36) Stacy-Phipps S, Patton JT.: Synthesis of plus- and minus-strand RNA in rotavirus-infected cells. *J Virol* 61:3479-3484, 1987.
  - 37) Ayala-Breton C, Arias M, Espinosa R, Romero P, Arias CF, López S.: Analysis of the kinetics of transcription and replication of the rotavirus genome by RNA interference. *J Virol* 83:8819-8831, 2009.
  - 38) Vende P, Piron M, Castagné N, Poncet D.: Efficient translation of rotavirus mRNA requires simultaneous interaction of NSP3 with the eukaryotic translation initiation factor eIF4G and the mRNA 3' end. *J Virol* 74:7064-7071, 2000.
  - 39) Poncet D, Aponte C, Cohen J.: Rotavirus protein NSP3 (NS34) is bound to the 3' end consensus sequence of viral mRNAs in infected cells. *J Virol* 67:3159-3165, 1993.
  - 40) Deo RC, Groft CM, Rajashankar KR, Burley SK.: Recognition of the rotavirus mRNA 3' consensus by an asymmetric NSP3 homodimer. *Cell* 108:71-81, 2002.
  - 41) Piron M, Vende P, Cohen J, Poncet D.: Rotavirus RNA-binding protein NSP3 interacts with eIF4GI and evicts the poly(A) binding protein from eIF4F. *EMBO J* 17:5811-5821, 1998.
  - 42) Groft CM, Burley SK.: Recognition of eIF4G by rotavirus NSP3 reveals a basis for mRNA circularization. *Mol Cell* 9:1273-1283, 2002.
  - 43) Padilla-Noriega L, Paniagua O, Guzmán-León S.: Rotavirus protein NSP3 shuts off host cell protein synthesis. *Virology* 298:1-7, 2002.
  - 44) Cheung W, Gill M, Esposito A, Kaminski CF, Courousse N, Chwetzoff S, Trugnan G, Keshavan N, Lever A, Desselberger U.: Rotaviruses associate with cellular lipid droplet components to replicate in viroplasm, and compounds disrupting or blocking lipid droplets inhibit viroplasm formation and viral replication. *J Virol* 84:6782-6798, 2010.
  - 45) Martin D, Duarte M, Lepault J, Poncet D.: Sequestration of free tubulin molecules by the viral protein NSP2 induces microtubule depolymerization during rotavirus infection. *J Virol* 84:2522-2532, 2010.
  - 46) Contin R, Arnoldi F, Mano M, Burrone OR.: Rotavirus replication requires a functional proteasome for effective assembly of viroplasms. *J Virol* 85:2781-2792, 2011.
  - 47) López T, Silva-Ayala D, López S, Arias CF.: Replication of the rotavirus genome requires an active ubiquitin-proteasome system. *J Virol* 85:11964-11971, 2011.
  - 48) Arnoldi F, De Lorenz G, Mano M, Schraner EM, Wild P, Eichwald C, Burrone OR.: Rotavirus increases levels of lipidated LC3 supporting accumulation of infectious progeny virus without inducing autophagosome formation. *PLoS One* 9:e95197, 2014.
  - 49) Zeng CQ, Wentz MJ, Cohen J, Estes MK, Ramig RF.: Characterization and replicase activity of double-layered and single-layered rotavirus-like particles expressed from baculovirus recombinants. *J Virol* 70:2736-2742, 1996.
  - 50) Patton JT, Wentz M, Xiaobo J, Ramig RF.: cis-Acting signals that promote genome replication in rotavirus mRNA. *J Virol* 70:3961-3971, 1996.
  - 51) Wentz MJ, Patton JT, Ramig RF.: The 3' -terminal consensus sequence of rotavirus mRNA is the minimal promoter of negative-strand RNA synthesis. *J Virol* 70:7833-7841, 1996.
  - 52) Taylor JA, O'Brien JA, Yeager M.: The cytoplasmic tail of NSP4, the endoplasmic reticulum-localized non-structural glycoprotein of rotavirus, contains distinct virus binding and coiled coil domains. *EMBO J* 15:4469-4476, 1996.
  - 53) 河本聡志, 谷口孝喜: ロタウイルス学, ロタウイルス胃腸炎の予防と治療の新しい展開 (神谷齊, 梶原俊昭編), 医薬ジャーナル社, 大阪, pp 26-38.
  - 54) Deal EM, Jaimes MC, Crawford SE, Estes MK, Greenberg HB.: Rotavirus structural proteins and dsRNA are required for the human primary plasmacytoid dendritic cell IFN $\alpha$  response. *PLoS Pathog* 6:e1000931, 2010.
  - 55) Rojas M, Arias CF, López S.: Protein kinase R is responsible for the phosphorylation of eIF2 $\alpha$  in rotavirus infection. *J Virol* 84:10457-10466, 2010.
  - 56) Graff JW, Mitzel DN, Weisend CM, Flenniken ML, Hardy ME.: Interferon regulatory factor 3 is a cellular partner of rotavirus NSP1. *J Virol* 76:9545-9550, 2002.
  - 57) Graff JW, Ewen J, Ettayebi K, Hardy ME.: Zinc-binding domain of rotavirus NSP1 is required for proteasome-dependent degradation of IRF3 and autoregulatory NSP1 stability. *J Gen Virol* 88:613-620, 2007.
  - 58) Barro M, Patton JT.: Rotavirus nonstructural protein 1 subverts innate immune response by inducing degradation of IFN regulatory factor 3. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:4114-4119, 2005.
  - 59) Sen A, Pruijssers AJ, Dermody TS, Garcia-Sastre A, Greenberg HB.: The early interferon response to rotavirus is regulated by PKR and depends on MAVS/IPS-1, RIG-1, MDA-5, and IRF3. *J Virol* 85:3717-3732, 2011.
  - 60) Graff JW, Ettayebi K, Hardy ME.: Rotavirus NSP1 inhibits NF $\kappa$ B activation by inducing proteasome-dependent degradation of beta-TrCP: a novel mechanism of IFN antagonism. *PLoS Pathog* 5:e1000280, 2009.
  - 61) Qin L, Ren L, Zhou Z, Lei X, Chen L, Xue Q, Liu X, Wang J, Hung T.: Rotavirus nonstructural protein 1 antagonizes innate immune response by interacting with retinoic acid inducible gene 1. *Virol J* 8:526, 2011.
  - 62) Broquet AH, Hirata Y, McAllister CS, Kagnoff MF.: RIG-1/MDA5/MAVS are required to signal a protective IFN response in rotavirus-infected intestinal epithelium. *J Immunol* 186:1618-1626, 2011.
  - 63) Nandi S, Chanda S, Bagchi P, Nayak MK, Bhowmick R, Chawla-Sarkar M.: MAVS protein is attenuated by rotavirus nonstructural protein 1. *PLoS One* 9:e92126, 2014.
  - 64) Bhowmick R, Halder UC, Chattopadhyay S, Nayak MK, Chawla-Sarkar M.: Rotavirus-encoded nonstructural protein 1 modulates cellular apoptotic machinery

- by targeting tumor suppressor protein p53. *J Virol* 87:6840-6850, 2013.
- 65) Bagchi P, Bhowmick R, Nandi S, Nayak MK, Chawla-Sarkar M.: Rotavirus NSP1 inhibits interferon induced non-canonical NF  $\kappa$  B activation by interacting with TNF receptor associated factor 2. *Virology* 444:41-44, 2013.
  - 66) Barro M, Patton JT.: Rotavirus NSP1 inhibits expression of type 1 interferon by antagonizing the function of interferon regulatory factors IRF3, IRF5, and IRF7. *J Virol* 81:4473-4481, 2007.
  - 67) Zhang R, Jha BK, Ogden KM, Dong B, Zhao L, Elliott R, Patton JT, Silverman RH, Weiss SR.: Homologous 2' ,5' -phosphodiesterases from disparate RNA viruses antagonize antiviral innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:13114-13119, 2013.
  - 68) Osborne MP, Haddon SJ, Worton KJ, Spencer AJ, Starkey WG, Thornber D, Stephen J.: Rotavirus-induced changes in the microcirculation of intestinal villi of neonatal mice in relation to the induction and persistence of diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 12:111-120, 1991.
  - 69) Estes MK, Atmar RL.: Viral pathogens in the intestine. In: *Microbial Pathogenesis and the Intestinal Epithelial Cell*. Hecht G (Ed.), ASM Press, Washington, DC, USA, 525-545, 2003.
  - 70) Ward LA, Rosen BI, Yuan L, Saif LJ.: Pathogenesis of an attenuated and a virulent strain of group A human rotavirus in neonatal gnotobiotic pigs. *J Gen Virol* 77:1431-1441, 1996.
  - 71) Ball JM, Tian P, Zeng CQ, Morris AP, Estes MK.: Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science* 272:101-104, 1996.
  - 72) Estes MK, Morris AP.: A viral enterotoxin. A new mechanism of virus-induced pathogenesis. *Adv Exp Med Biol* 473:73-82, 1999.
  - 73) Lundgren O, Peregrin AT, Persson K, Kordasti S, Uhnoo I, Svensson L.: Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. *Science* 287:491-495, 2000.
  - 74) Blutt SE, Kirkwood CD, Parreño V, Warfield KL, Ciarlet M, Estes MK, Bok K, Bishop RF, Conner ME.: Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet* 362:1445-1449, 2003.
  - 75) Blutt SE, Conner ME.: Rotavirus: to the gut and beyond! *Curr Opin Gastroenterol* 23:39-43, 2007.
  - 76) Fenaux M, Cuadras MA, Feng N, Jaimes M, Greenberg HB.: Extraintestinal spread and replication of a homologous EC rotavirus strain and a heterologous rhesus rotavirus in BALB/c mice. *J Virol* 80:5219-5232, 2006.
  - 77) Ramig RF.: Systemic rotavirus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther* 5:591-612, 2007.
  - 78) 森島恒雄：小児の急性脳炎・脳症の現状. *ウイルス* 59:59-65, 2009.
  - 79) Iturriza-Gómara M, Isherwood B, Desselberger U, Gray J.: Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J Virol* 75:3696-3705, 2001.
  - 80) Martella V, Bányai K, Matthijnsens J, Buonavoglia C, Ciarlet M.: Zoonotic aspects of rotaviruses. *Vet Microbiol* 140:246-255, 2010.
  - 81) Desselberger U.: Genome rearrangements of rotaviruses. *Adv Virus Res* 46:69-95, 1996.
  - 82) Hundley F, Biryahwaho B, Gow M, Desselberger U.: Genome rearrangements of bovine rotavirus after serial passage at high multiplicity of infection. *Virology* 143:88-103, 1985.
  - 83) Navarro A, Trask SD, Patton JT.: Generation of genetically stable recombinant rotaviruses containing novel genome rearrangements and heterologous sequences by reverse genetics. *J Virol* 87:6211-6220, 2013.
  - 84) Pedley S, Hundley F, Chrystie I, McCrae MA, Desselberger U.: The genomes of rotaviruses isolated from chronically infected immunodeficient children. *J Gen Virol* 65:1141-1150, 1984.
  - 85) Hundley F, McIntyre M, Clark B, Beards G, Wood D, Chrystie I, Desselberger U.: Heterogeneity of genome rearrangements in rotaviruses isolated from a chronically infected immunodeficient child. *J Virol* 61:3365-3372, 1987.
  - 86) Tian Y, Tarlow O, Ballard A, Desselberger U, McCrae MA.: Genomic concatemerization/deletion in rotaviruses: a new mechanism for generating rapid genetic change of potential epidemiological importance. *J Virol* 67:6625-6632, 1993.
  - 87) Taniguchi K, Kojima K, Urasawa S.: Nondefective rotavirus mutants with an NSP1 gene which has a deletion of 500 nucleotides, including a cysteine-rich zinc finger motif-encoding region (nucleotides 156 to 248), or which has a nonsense codon at nucleotides 153-155. *J Virol* 70:4125-4130, 1996.
  - 88) Troupin C, Schnuriger A, Duponchel S, Deback C, Schnepf N, Dehee A, Garbarg-Chenon A.: Rotavirus rearranged genomic RNA segments are preferentially packaged into viruses despite not conferring selective growth advantage to viruses. *PLoS One* 6:e20080, 2011.
  - 89) 谷口孝喜, 河本聡志, 佐々木潤, 釘田雅則：ロタウイルスのリバースジェネティクスとその展望. *ウイルス* 59:91-98, 2009.
  - 90) 河本聡志：ロタウイルス遺伝子操作系の開発とそれを用いた外殻スパイク蛋白質VP4の解析. *ウイルス* 63:103-112, 2013.
  - 91) Komoto S, Sasaki J, Taniguchi K.: Reverse genetics system for introduction of site-specific mutations into the double-stranded RNA genome of infectious rotavirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:4646-4651, 2006.
  - 92) Komoto S, Kugita M, Sasaki J, Taniguchi K.: Generation of recombinant rotavirus with an antigenic mosaic of cross-reactive neutralization epitopes on VP4. *J Virol* 82:6753-6757, 2008.
  - 93) Komoto S, Wakuda M, Ide T, Niimi G, Maeno Y, Higo-Moriguchi K, Taniguchi K.: Modification of the trypsin cleavage site of rotavirus VP4 to a furin-sensitive form does not enhance replication efficiency. *J Gen Virol* 92:2914-2921, 2011.

- 94) Taniguchi K, Komoto S.: Genetics and reverse genetics of rotavirus. *Curr Opin Virol* 2:399-407, 2012.
- 95) Komoto S, Taniguchi K.: Genetic engineering of rotaviruses by reverse genetics. *Microbiol Immunol* 57:479-486, 2013.
- 96) Trask SD, Taraporewala ZF, Boehme KW, Dermody TS, Patton JT.: Dual selection mechanisms drive efficient single-gene reverse genetics for rotavirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:18652-18657, 2010.
- 97) Troupin C, Dehee A, Schnuriger A, Vende P, Poncet D, Garbarg-Chenon A.: Rearranged genomic RNA segments offer a new approach to the reverse genetics of rotaviruses. *J Virol* 84:6711-6719, 2010.
- 98) Kobayashi T, Antar AAR, Boehme KW, Danthi P, Eby EA, Guglielmi KM, Holm GH, Johnson EM, Maginnis MS, Naik S, Skelton WB, Wetzel JD, Wilson GJ, Chapman JD, Dermody TS.: A plasmid-based reverse genetics system for animal double-stranded RNA viruses. *Cell Host Microbe* 1:147-157, 2007.
- 99) Boyce M, Celma CC, Roy P.: Development of reverse genetics systems for bluetongue virus: recovery of infectious virus from synthetic RNA transcripts. *J Virol* 82:8339-8348, 2008.
- 100) Matsuo E, Celma CC, Roy P.: A reverse genetics system of African horse sickness virus reveals existence of primary replication. *FEBS Lett* 584:3386-3391, 2010.
- 101) Leshem E, Lopman B, Glass R, Gentsch J, Bányai K, Parashar U, Patel M.: Distribution of rotavirus strains and strain-specific effectiveness of the rotavirus vaccine after its introduction: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 14:847-856, 2014.

## Rotaviruses

**Satoshi KOMOTO and Koki TANIGUCHI**

Department of Virology and Parasitology, Fujita Health University School of Medicine,  
Toyoake, Aichi 470-1192, Japan  
E-mail: satoshik@fujita-hu.ac.jp

Rotavirus, a member of the family *Reoviridae*, was identified as the leading etiological agent of severe gastroenteritis in infants and young children in 1973. The rotavirus genome is composed of 11 gene segments of double-stranded (ds)RNA. During the last 40 years, a large amount of basic research on rotavirus structure, genome, antigen, replication, pathogenesis, epidemiology, immune responses, and evolution has been accumulated. This article reviews the fundamental aspects of rotavirology including recent important achievements in research.

