

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	児島 一州
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 白石 光也
	副査 鹿児島大学 教授 小原 恭子
	副査 鹿児島大学 教授 田仲 哲也
	副査 鹿児島大学 教授 三好 宜彰
	副査 山口大学 准教授 下田 宙
審査協力者	鹿児島大学 准教授 小澤 真
題 目	Molecular biological studies on host cell responses involving rabies virus matrix protein 狂犬病ウイルスM蛋白質が関与する宿主細胞応答の分子生物学的研究
【博士論文要旨】	
<p>狂犬病は、狂犬病ウイルスが引き起こす致死的な神経疾患であり、すべての哺乳類が発症する。発症後の治療法はなく、本ウイルスの病原性発現機構の基礎的な情報の蓄積が必要である。</p> <p>狂犬病患者の脳では、炎症や細胞死はほぼ観察されないことから、狂犬病ウイルスは自然免疫応答を回避することが示唆されている。そこで申請者は、本ウイルスの自然免疫回避機構の解明を目的とし、自然免疫応答を回避する強毒型の西ヶ原株と、自然免疫応答を強く誘導する弱毒型のNi-CE株の比較解析を行なった。</p> <p>第1章では、ストレス顆粒(SG)に注目した。SGは、インターフェロン(IFN)誘導を促進するRIG-Iの活性化の足場として機能することで、自然免疫応答に寄与するとされる。そこで、狂犬病ウイルスの病原性とSG形成誘導の関連を明らかにするために、両株のSG形成誘導を調べた。その結果、西ヶ原株はSGを誘導しなかったのに対し、Ni-CE株はSGを顕著に誘導した。次に、SG形成に関与するウイルス蛋白質を特定するために、西ヶ原株の各遺伝子をNi-CE株に置換したキメラウイルスを作出し、SG形成誘導能を比較した。その結果、Ni-CE株のM遺伝子を有するNi(CEM)株のみが強いSG形成誘導を示した。さらに、西ヶ原株とNi-CE株のM蛋白質は29位(M29)と95位(M95)の2アミノ酸のみが異なるため、それぞれのアミノ酸を置換した変異株を作出し、SG形成誘導を検討した。その結果、M29変異株は元のウイルスと同じSG形成誘導を示したが、M95変異株は元のウイルスと逆のSG形成誘導を示した。すなわち、SG形成誘導にはM95が重要であることが明らかとなった。</p> <p>第2章では、M95が関与するSG形成機構の解明を試みた。ウイルスが細胞内に侵入すると、活性化した細胞内酵素PKRが翻訳開始因子eIF2αをリン酸化することでSG形成が引き起こされる。そこで、西ヶ原、Ni-CE及びM95変異株であるNi(CEM95)及びCE(NiM95)株感染細胞におけるPKR活性化及びeIF2αのリン酸化を解析した。その結果、Ni-CE及びNi(CEM95)株はPKR活性化及びeIF2αのリン酸化を介してSG形成を誘導するのにに対し、西ヶ原及びCE(NiM95)株では起こらないことが明らかとなった。さら</p>	

に、Ni-CE及びNi (CEM95) 株感染細胞では、SGへのRIG-Iの蓄積とIFN- β 遺伝子発現誘導がみられた。よって、M95が関与するSG形成はPKR活性化とeIF2 α リン酸化により引き起こされ、結果としてRIG-IがSGに集積し、IFN- β 遺伝子発現が誘導されることが示唆された。

第3章では、M95が関与する細胞死に着目した。これまでに、西ヶ原株及びCE (NiM95) 株は細胞死を誘導しないのに対し、Ni-CE株及びNi (CEM95) 株は細胞死を誘導することが報告されていたが、分子機構は不明であった。この細胞死にカスパーゼ活性化が関与することを示し、さらにカスパーゼ阻害下でもこの細胞死は抑制されなかったことから、カスパーゼ非依存性の細胞死シグナルの関与も示唆された。

【審査評価結果】

狂犬病は狂犬病ウイルスによる致死的な人獣共通感染症であり、この病原性発現機構の解明は不十分である。本論文は本ウイルスの感染細胞におけるSG形成とそのメカニズムに関する研究成果をまとめたものであり、以下の知見を得ている。

(1) 抗ウイルス自然免疫応答に寄与するとされるSGが、強毒狂犬病ウイルス株である西ヶ原株の感染細胞では認められないのに対し弱毒ウイルス株であるNi-CE株の感染細胞では形成されることを見出し、M95を置換した変異株の実験からM95のValからAlaへの置換が重要であることを明らかにした。

(2) 狂犬病ウイルスM95が関与するSG形成機構を解析し、SG形成はPKRの活性化を介したeIF2 α リン酸化により引き起こされることを明らかにし、その結果としてRIG-IがSGに集積することでIFN- β 遺伝子の発現が誘導されることを確認した。

(3) 狂犬病ウイルスのM95がAlaになることで誘導される細胞死メカニズムとして、感染細胞ではカスパーゼの活性化が引き起こされることを確認し、さらにカスパーゼ非依存性の細胞死シグナルも関与することを明らかにした。

以上の成果は、ウイルスM蛋白質が関与するSG形成誘導能及び細胞死の分子機構の一端を明らかにするものである。M95は狂犬病ウイルスの病原性への関与も知られているため、本研究で得られた知見は、狂犬病ウイルス病原性発現機構の解明における基盤的データとなり、今後本ウイルスを制御する上で有益な情報になることが今後も期待される。

以上により、本論文は、博士（獣医学）を授与するにふさわしい価値が十分にあると認められた。