

氏名	西江 友美		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7584 号		
学位授与年月	平成 27 年 12 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	麻疹ウイルスアクセサリー C タンパク質のウイルス RNA 合成に関する機能解析		
主査	筑波大学教授	獣医学博士	八神 健一
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	齋藤 慎二
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	大城 幸雄
副査	筑波大学助教	博士 (医学)	濱田 理人

論文の内容の要旨

(目的)

麻疹は麻疹ウイルスを病原体とする急性ウイルス感染症であり、有効なワクチンが存在するものの、現在でも発展途上国を中心に年間数十万人の死亡が報告されている。麻疹ウイルス C タンパク質は約 21 kDa の塩基性タンパク質で、ウイルス粒子の構成因子ではないがウイルス増殖に必要な因子である。C タンパク質は IFN α 受容体と結合し自然免疫を抑制することやウイルス RNA の合成を調整することが示唆されているが、それらのメカニズムは未解明である。本研究では、麻疹ウイルスの RNA 合成における C タンパク質の機能を明らかにすることを目的として実施された。

(対象と方法)

リバーシジェネティクスにより作製された、C タンパク質欠損麻疹ウイルス株 (MV(C-)) を実験に用いた。野生型ウイルス株 (MV) または MV(C-) を Vero/hSLAM 細胞に感染させ、経時的に細胞を回収しウイルス遺伝子 (N, P, L) の転写量を RT-qPCR 法により解析した。また、C タンパク質とウイルス因子あるいは 1 本鎖 RNA との結合状態、N タンパク質とウイルスゲノムの結合状態を免疫沈降法や RNA immunoprecipitation (RIP) assay により検討した。

(結果)

感染初期におけるウイルス RNA の転写量は MV 感染細胞と比較して MV(C-) 感染細胞で低下した。RNA 合

審査様式 2 - 1

成に関わるウイルス因子と C タンパク質との結合を検討したところ、C タンパク質は N タンパク質と直接的に結合し、P タンパク質とは N または L タンパク質を介して間接的に結合することが明らかとなった。また、C タンパク質は一本鎖 RNA と結合することが明らかとなり、一本鎖 RNA であるウイルスゲノム (vRNA) と結合することが示唆された。N タンパク質はウイルスゲノムと vRNP を形成することでウイルスゲノムを安定化させる。感染初期において C タンパク質が新規 vRNP 形成に影響をあたえている可能性を検討するため、感染細胞を用いて RIP assay を行った。その結果、ウイルスゲノムに結合する N タンパク質量は、MV 感染細胞よりも MV (C-) 感染細胞の方が少ないことが明らかとなった。

(考察)

C タンパク質は、感染初期において、N タンパク質およびウイルスゲノムを介して転写を促進することが明らかとなった。また、C タンパク質は N タンパク質とウイルスゲノムから構成される vRNP 形成を促進する作用があることが示唆された。初期の感染細胞においては、感染したウイルス粒子に由来する vRNP だけでは転写の鋳型量が不十分であり、少量の複製を行うことで転写の鋳型となる新規 vRNP を増加させ転写を促進すると考えられる。さらに、C タンパク質は、N タンパク質とウイルスゲノムとの結合を促進することで、転写の鋳型となる vRNP 形成を促し、結果的に転写量を増大させている可能性が考えられる。C タンパク質は N タンパク質を積極的にウイルスゲノム上に呼び込む、シャペロンのような働きをしていることが示唆された。

審査の結果の要旨

(批評)

麻疹は麻疹ウイルスによる急性ウイルス感染症であり、発展途上国を中心に多くの患者が発生し、様々な合併症を併発する重要な感染症である。麻疹ウイルス C タンパク質はウイルス増殖に必要な因子と考えられているが、ウイルスゲノムの複製過程での役割やメカニズムは未解明である。本研究では、麻疹ウイルスの RNA 合成における C タンパク質の機能を明らかにすることを目的として、培養細胞内にウイルス因子発現ベクターおよびレポーター遺伝子発現ベクターを共導入した実験系による Minigenome assay で RNA 転写量を測定し、免疫沈降法、RIP assay 等により C タンパク質とウイルス因子との結合状態を検討した。その結果、C タンパク質は感染初期においてウイルス RNA の転写量を高めること、C タンパク質は N タンパク質と直接的に結合し、P タンパク質とは N または L タンパク質を介して間接的に結合することが明らかとなり、さらに C タンパク質がウイルスゲノムとも結合することが示唆された。これらのことから、感染初期において、C タンパク質が N タンパク質やウイルスゲノムから構成される vRNP 形成を促進することで、転写を促進するモデルを示した。

麻疹ウイルス RNA 合成における C タンパク質の機能とそのメカニズムの一端を明らかにしたもので、麻疹ウイルス増殖の分子メカニズムの全容を解明するうえで重要な知見をもたらした研究である。

平成 27 年 10 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

審査様式 2 - 1

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。