

審査の結果の要旨

氏名 棟方 翼

ポリオウイルスは小児マヒ（急性灰白髄炎）の病因であり、約 7500 塩基からなるプラス鎖 RNA をゲノムとして保有している。ポリオウイルスをはじめとするピコルナウイルス科エンテロウイルス属のウイルスの特異的 mRNA の 5'非翻訳領域には、IRES（internal ribosome entry site）が存在し、感染細胞内でキャップ構造（m⁷GpppX）非依存的な翻訳開始が行われる。一方、細胞側のキャップ構造依存性の翻訳開始は、ウイルス遺伝子の産物である 2A プロテアーゼが発現することにより阻害（shut off）される。

Shut off 現象は、2A プロテアーゼにより、直接的または間接的に、翻訳開始因子 eIF4G（開始因子複合体 eIF4F のサブユニット）が切断されることが原因となり起こると説明されていた。eIF4G はキャップ構造依存性翻訳開始にとって不可欠である。しかしながら、この考え方に矛盾する現象が見出されている。すなわち、ポリオウイルス感染後、eIF4G が切断される以前に、宿主細胞の蛋白質合成の shut off が起こること、また細胞抽出液を用いた試験管内蛋白質合成系において、50%以上の eIF4G が切断されずに残っている条件でも、2A プロテアーゼ依存的にキャップ構造からの翻訳が 5%以下に低下することなどである。以上のことから、2A によるキャップ構造依存性な翻訳阻害メカニズムには、2A プロテアーゼを介した eIF4G 切断以外のメカニズムが存在することが予想された。そのメカニズムを解明するために、ポリオウイルスの 2A プロテアーゼを使用して、新たな 2A プロテアーゼの機能を解析した。

まず、すべてのエンテロウイルスの 2A プロテアーゼ上に、キャップ結合

蛋白質 eIF4E（開始因子複合体 eIF4F のサブユニット）認識モチーフが存在することを見出した。そこで、2A プロテアーゼと eIF4E の結合実験を行い、両者が直接相互作用することを明らかにした。この時点で、この相互作用が eIF4E のキャップ構造への結合活性に影響を与えているという仮説を立て、その証明を以下のように行った。

- 1) キャップ構造に eIF4E が結合した状態に 2A プロテアーゼを添加すると、eIF4E がキャップ構造から解離することを明らかにした。
- 2) 2A プロテアーゼの eIF4E 認識モチーフへの変異導入により、1) の 2A プロテアーゼ活性が阻害されることを示した。また、プロテアーゼ活性を失わせた変異 2A によっても 1) の活性は観察できることを示した。
- 3) プロテアーゼ活性がなく、eIF4E への結合能のみを持つ変異 2A により、キャップ構造依存的翻訳開始が阻害されることを、dicistronic mRNA（first cistron はキャップ構造依存的、second cistron は IRES 依存的）の cDNA と変異 2A の cDNA を共に細胞にトランスフェクションし、各レポーターの発現を測定することにより証明した。

以上の研究成果は、ポリオウイルスをはじめとするエンテロウイルスによる病原性発現の機構の一つである「宿主細胞蛋白質合成開始の阻害」に関する新たなメカニズムの提唱であり、博士（薬学）の学位論文に十分値すると判定した。