

審査の結果の要旨

氏名 柳 谷 朗 子

ポリオウイルス (PV) がヒトに感染すると、最終的に中枢神経系に到達し、そこで主に脊髄前角の運動神経細胞で複製し、その細胞を破壊する。その結果、感染者の四肢にマヒを生じさせる。したがって、PV の神経細胞毒性発現の研究は、PV 病原性研究の最も重要な位置を占める研究とあって差し支えない。しかしながら、現在のところ、PV の神経細胞破壊の分子メカニズムは、ほとんど明らかにされていない。

多くの PV 複製研究は、HeLa 細胞（ヒトの子宮頸癌由来）を使用して行われてきた。HeLa 細胞に PV が感染すると、その後どのような処理をしても必ず細胞死に到ることが知られている。ところが、神経細胞（ヒト神経芽腫由来）は、感染数時間後に抗 PV 血清を添加すると、細胞変性効果（CPE）の発現が抑えられるという報告がある。神経細胞には特殊な能力が備わっていることを示すデータである。

同様の実験を、PV 感染神経細胞（SK-N-SH 細胞）と感染阻止活性を持つ単クローン抗体（抗 PV 抗体または抗 PV 受容体抗体）を使用して行った。CPE 発現阻止は抗 PV 抗体のみならず抗 PV 受容体抗体添加によっても観察された。抗体添加時期を感染後 4 時間以降にすると、CPE が発現することから、最初の感染による子ウイルスが再び感染することにより神経細胞の CPE が発現すると考えられた。

そこで、本研究では、一度の PV 感染では、なぜ CPE が発現しないかに焦点を絞り、分子レベルの解析を行った。まず、PV の産生量を抗体添加および非添加の条件で比較し、産生量に差は見られないことを示した。次に、同じレベルの PV 産生量があるにもかかわらず、抗体の添加により何故 CPE 発現

が阻止されるかを検討した。

まずパルスラベル法により、宿主細胞側タンパク質合成量および PV 特異的タンパク質合成量の経時変化を調べた。その結果、抗体添加により PV 側タンパク質合成が感染後 5-7 時間以降は阻害されることを見出した。すなわち、神経細胞は PV 感染に応答し、PV IRES (internal ribosome entry site) の活性を抑えるシステムを持つことを示している。この現象は、HeLa 細胞では観察できないので、神経細胞特有のウイルス抵抗性であると思われる。

CPE 発現の中心的役割を果たしているのは PV タンパク質 2A^{pro} (プロテアーゼ) と考えられている。事実、2A^{pro} 単独発現でも HeLa 細胞は CPE を発現する。そこで、PV 感染神経細胞における 2A^{pro} 発現と、その結果切断される翻訳開始因子 eIF4G の状態を経時的にウェスタンブロッティングで解析した。その結果、感染初期には 2A^{pro} 発現および eIF4G の完全切断を示すデータが得られたが、感染後 11 時間では eIF4G の完全長のものが出現していることが明らかとなった。この時期には 2A^{pro} は依然として細胞内に残存していた。そこで、2A^{pro} の細胞内局在性を調べ、2A^{pro} が核内に移行していることを明らかにした。

以上の結果は、PV 感染に応答し、神経細胞は PV IRES の活性阻害物質を産生し、一度の感染ではウイルス複製の重要な過程であるタンパク質合成を阻害してしまうこと、また、ウイルスタンパク質合成が阻害されるまでに産生された 2A^{pro} を細胞質から核へ移行させ、細胞質内に新たに合成される eIF4G が切断されなくなり、完全長の eIF4G が復活することを示唆している。その結果として神経細胞は生存しつづけると思われる。

以上の研究成果は、神経細胞が持つ抗 PV 作用の分子メカニズム解明にはじめて迫るものであり、PV の神経毒性発現の一端を明らかにしたものとして高く評価できる。博士 (薬学) の学位論文に十分値すると判定した。