

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏 名 石渡 瑞穂

本研究は、母子感染により児に神経学的障害を及ぼすことで知られるサイトメガロウイルスについて、その神経障害がおこる機序をマウスおよびマウスサイトメガロウイルスを用いた実験系により解析したものである。

サイトメガロウイルスはグリア系細胞においては許容感染を起こし、神経細胞では持続感染しやすいことが報告されていた。それに関してこれまでウイルス遺伝子の細胞特異的発現による感染動態の解析により、いくつかの報告が出されていた。そのなかで、許容感染を起こしやすいグリア細胞では前初期蛋白 IE1 が発現しやすく、その反面持続感染に移行しやすい神経細胞においては前初期蛋白 IE1 の発現がみられないにもかかわらず早期蛋白 E1 が発現、しかも持続的に発現し、持続感染が成立しているという知見があった。しかし、ではなぜ前初期蛋白 IE1 の発現なしに、本来前初期から早期、後期へとカスケード式に発現してウイルスの複製を進める CMV が、神経細胞において持続感染を成立させているのかは謎であった。

この研究では、現在までその働きが明らかにされてこなかったマウスサイトメガロウイルス主要前初期蛋白のうち IE2 と IE3 の特異的抗体を作成した。そして培養細胞系およびMCMV 周産期感染マウス脳において、前初期蛋白 IE2 と IE3 の発現動態を免疫組織化学的に解析することにより、サイトメガロウイルスの胎内感染後の神経細胞への持続感染の成立における IE2 蛋白および IE3 蛋白の役割を示唆した。具体的には、下記に示す結果が得られている。

1. マウスサイトメガロウイルス主要前初期蛋白のうち IE2 と IE3 の機能解析のために、IE2 蛋白に対するモノクローナル抗体を初めて作製し、その特異性を確認した。同時に、MCMV IE3 蛋白に対するポリクローナル抗体を作成

して特異性を確認した。

2. 作成した抗 IE2 抗体と抗 IE3 抗体を用いて、感染培養細胞における IE2 と IE3 の発現動態と分布を確認した。感染培養細胞において、IE2 と IE3 はいずれも感染後 2 時間後には蛋白の発現が確認でき、また IE 状態において発現が増強された。IE2、IE3 の感染培養細胞における細胞内局在についても、時間的、空間的な違いがみられた。IE3 は初期から核内に点状に発現し、感染後期に至るまで核内にとどまっていた。一方、IE2 は感染初期には核内にびまん性に発現を認めるものの、感染後期には細胞質にまで発現が拡大していた。このことから、IE2 遺伝子は IE promoter の転写調節因子としての前初期遺伝子の機能だけではなく、感染後期に細胞質内で機能を発揮する後期遺伝子としての機能も併せ持っている可能性が示唆された。
3. MCMV 感染発育期脳における IE2 と IE3 の発現動態と分布を確認したところ、IE2 は神経細胞に優位に発現し、以後神経細胞に持続的に発現が続く傾向があった。そして IE3 は感染初期にグリア細胞に優位に発現し、以後発現が消失していくことが確認できた。さらに初期の感染においては、いずれの蛋白も神経前駆細胞に発現することが示された。

この論文は、以上に示された結果に文献的考察を加え、今まで未知に等しい存在であったマウスサイトメガロウイルス前初期蛋白 IE2 は、転写調節因子としての前初期蛋白の機能だけではなく、後期蛋白としての機能も併せ持つ multifunction な蛋白であり、発育期脳での CMV 持続感染の成立において重要な役割を担っていることを初めて示した。そして現在のところ有効な治療法が存在しないサイトメガロウイルス母子感染による神経障害について、前初期蛋白 IE2 をターゲットとしたワクチン開発や遺伝子治療など臨床応用への可能性を初めて提言したものである。サイトメガロウイルス母子感染による児への神経障害の機序の解明および新しい治療への道の開拓に大きく貢献したと考えられ、博士の学位の授与に値するものと考えられる。