

審査の結果の要旨

氏名 藤岡 宏 樹

マクロファージガラクトース型C型レクチン(MGL/CD301)の細胞内ドメインのSNPによるエボラウイルス感染に対する感受性の違い、と題する本研究は、高等動物の細胞表面に発現する糖鎖認識分子(レクチン)の中で、カルシウムイオンに依存的ないわゆるC型レクチンの一つであるMGL(ClecSF14, Clec10A, CD301などとも呼ばれる)の構造と機能に関する研究であるが、特に感染性ウイルスの細胞への侵入に介在するという役割に注目している。この分子の遺伝的な多型、すなわち35番目のアミノ酸がArgかCysかによって感染に対する感受性が異なるという、極めて重要な結論が導かれている。

全体は4つの章から成り第1章では背景と目的が述べられ、第2章ではヒトArg³⁵-MGLを強制発現させたヒト前赤芽球白血病細胞においてMGL依存的にエボラウイルスの感染が起こることが述べられ、第3章では、Cys³⁵-MGLとArg³⁵-MGLとを発現した細胞の比較が、ムチン様糖蛋白質及びウイルス様粒子の結合、取り込み、更にウイルス感染という観点から解析されている。第4章はまとめと総括である。

第1章においては、糖鎖を多数含むムチン様分子で表面がおおわれているウイルスとして、エボラウイルスを含むフィロウイルスが良く知られていること、フィロウイルスは出血熱を起こす致死率の高いウイルスであり治療法が確立していないこと、これらのウイルスが感染するのはマクロファージや樹状細胞などであることなどが述べられている。ウイルス表面の蛋白質に見られるムチン様分子を欠くエボラウイルスは感染力が低下することから、ムチン様分子が感染に必須であり、これと相互作用を示す分子は感染に関与すると考えられた。これらのことから、本研究はエボラウイルスの感染にレクチンであるMGLが関与し、その遺伝的多型が感染に対する感受性を規定している可能性を追求していることが述べられている。メカニズムの解明はウイルス感染に対する予防・治療法の開発に役立つことが明解に説明されている。

第2章ではマクロファージガラクトース型C型レクチン(MGL/CD301)がエボラウイルス感染に直接関与することが述べられている。ヒトMGL(Arg³⁵-MGL)を発現するトランスフェクタント細胞クローンを作製して行った実験の結果である。MGLはウイルスの感染を促進すること、これはウイルス表面糖蛋白質のムチン様領域とMGLとの相互作用によること、さらに

抗ヒト MGL 抗体によって感染が阻害されること、等が見出されたことが述べられている。感染実験に用いる擬似ウイルスとしては、外郭蛋白質はエボラウイルスであるが内部の遺伝子をブタ水疱性口内炎ウイルスであるものを用いた。異なるフィロウイルスの外郭蛋白質を用いると、臨床的に知られている元のウイルスの感染性と擬似ウイルスの MGL トランスフェクタント細胞に対する感染性に相関が見られたとの結果が示されている。

第 3 章では、MGL/CD301 の 35 番目のアミノ酸に相当する SNP によるエボラウイルス感染に対する感受性の違いに関する研究成果が述べられている。まず、Arg³⁵-MGL 及び Cys³⁵-MGL 発現細胞クローンの作製が複数個準備された。抗ヒト MGL 抗体で検出される MGL の発現レベルがそれぞれ同一な高発現細胞と中発現細胞が得られた。ムチン様分子と結合及び取り込み実験、次にウイルス様粒子の結合及び取り込み実験、さらに擬似ウイルスの感染実験が行われた。ムチン様分子のモデルとして用いられたポリアクリルアミドに α -N-acetylgalactosamine (GalNAc) が複数個結合したポリマー (α -GalNAc-PAA) の結合と取込み量は、Arg³⁵-MGL 高発現細胞に比べ Cys³⁵-MGL 高発現細胞の方が高かった。さらに、擬似ウイルスの感染実験から、抗体によって検出される MGL の量が同じ場合、Cys³⁵-MGL 高発現細胞の方が Arg³⁵-MGL 高発現細胞より感染価が高かった。モックトランスフェクタント細胞における感染はほとんど見られなかった。擬似ウイルスの感染に対して抗 MGL 抗体 (mAb MLD-1) はウイルスの種類によらず阻害効果を示した。従って、MGL 分子内の特定のアミノ酸が感染効率に影響することを明らかにすることに成功し、ウイルス感染に対する感受性がレセプター分子の遺伝的な多型によって決まるという、重要な発見が記述されている。

第 4 章はまとめであり、1. エボラウイルスの感染が 4 亜種全てに対し、MGL を介して起こること、2. MGL を介した感染の大部分は、エボラウイルスのムチン様領域と相互作用によって成立すること、3. SNP による 35 番アミノ酸の変異によって、ムチン様分子及びウイルス様粒子の結合や取り込みに影響を与え、Arg 型の MGL を発現した細胞に比べ、Cys 型の MGL を発現した細胞で多くなること、4. Arg 型の MGL を発現した細胞に比べ、Cys 型の MGL を発現した細胞でエボラウイルスの感染が高くなること、5. エボラウイルスの感染は、抗ヒト MGL 抗体 (mAb MLD-1) によって阻害できること、などが明らかとなったことが述べられている。エボラウイルスの治療法は確立しておらず、MGL を介した感染を明らかにしたこと、SNP による感染性の違いを示唆したこと、抗体によって感染が阻害できること、などの本研究で得られた知見は非常に重要であると考えられる。

以上のように本研究は感染生物学及び糖鎖生物学の領域において価値の高い研究成果である。よって、本研究を行なった藤岡宏樹は博士 (薬学) の学位を得るにふさわしいと判断した。