

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 有井 潤

ヘルペスウイルスは、250種を超えるウイルスが属する巨大なファミリーを形成し、獣医学、医学上重要なさまざまな疾患を引き起こすが、その病態発現機構には不明な点が多い。ウイルスによる細胞への侵入は、ウイルスのトロピズムを規定し病態と密接に関わる。神経指向性の強いアルファヘルペスウイルスはさまざまな細胞種に感染することが知られており、本研究では、ヘルペスウイルスによる細胞侵入機構の解析を行った。

アルファヘルペスウイルスの細胞侵入は、gC、gB、gD、gH、gLという五つのエンベロープ糖タンパクによって引き起こされる。多くのアルファヘルペスウイルスは、*in vitro*における宿主特性が広いが、イヌヘルペスウイルス（CHV）およびネコヘルペスウイルス 1型（FHV-1）は、例外的に *in vitro* において厳密な宿主特異性を持つ。この様に、CHV、FHV-1 はきわめて特徴的な性質を持つが、分子生物学的な研究は立ち遅れており、その解析はほとんど行われていない。

単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）は、ヘルペスウイルス科の中で最も研究が進んでいるプロトタイプであり、その知見は他の全てのヘルペスウイルスに効率的にフィードバックされている。侵入に関わる糖タンパク質の中で、gB は全てのヘルペスウイルスに保存されたエンベロープ糖タンパク質であり、エンベロープと細胞膜との融合に必須である。最近、初めての HSV-1 gB レセプターとして PILR α が同定されたため、HSV-1 の gB と、新しく同定された gB receptor PILR α に焦点を当て、細胞侵入機構の解析を行った。

第 1 章では、CHV ゲノムの BAC（大腸菌人工染色体）へのクローニングを行い、大型ウイルスゲノムの簡便な組換え法である BAC system の適用を試みた。さらに確立したウイルス改変系を利用して、gC 欠損ウイルスを作成しその性状の解析を行った。

第 2 章では、FHV-1 ゲノムの BAC へのクローニングを行った。BAC system において蛍光タンパク質の挿入を行い、gD-mRFP-1 融合タンパク質を保持したウイルスを作製した。さらに CHV および FHV-1 の厳密な宿主特異性が、細胞侵入過程において規定されていることを示した。

第 3 章では、PILR α 依存的な細胞侵入機構を *in vitro* で解析し、ヘルペスウイルスによる二つの侵入経路の選択を決定する因子の 1 つが、gB レセプターであることを示した。さらに PILR α 依存的なウイルス侵入はアルファヘルペスウイルスで保存されていること、一方で HSV-2 がこのレセプターを使えないなど指向性が存在することを明らかにした。

第4章では、ウイルスの PILR α 依存的な細胞侵入が病態に与える影響を解析した。gB に最小変異を導入し、PILR α 依存的な細胞侵入能力をほぼ喪失する一方で、PILR α 非依存的な細胞侵入および他の gB 機能は野生体と同様の性状を示す組換え HSV-1 を作成した。この変異ウイルスがマウス角膜病態モデルにおいてウイルス増殖、角膜症状および致死率が有意に低下することを明らかにし、PILR α 依存的な細胞侵入が個体レベルでのウイルス増殖や病原性に大きな役割を果たしていることを示した。

第5章では、新たな gB receptor の探索を試みた。すでに報告のある gB receptor PILR は免疫系細胞での発現が強く、HSV-1 が属するアルファヘルペスウイルス亜科にとって重要な標的とされている神経系や上皮系細胞での発現は限定的であり、この様な細胞に発現する未知の gB receptor が存在することが予測されていた。上皮細胞や神経細胞といったアルファヘルペスウイルスの標的細胞に発現している新たな gB receptor の探索を試み、その機能解析を行った。

以上本論文は、アルファヘルペスウイルスによる細胞侵入機能の解析を *in vitro* および *in vivo* 両面で試みたもので、アルファヘルペスウイルスの細胞侵入機構の解明、および細胞侵入機構を標的とした抗ウイルス戦略の構築に大きく貢献するものである。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）論文として価値あるものと認めた。