

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ヤシル マージョブ モハメド アハメド
モハメド

牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) は、畜産経営上重要で、牛の繁殖にも関わる主要な病原体である。培養細胞におけるウイルスの性状から、非細胞病原性 (ncp) と細胞病原性 (cp) の 2 つ生物型が知られる。この 2 つの生物型は、*in vivo* において ncp 型ウイルスが持続感染した動物における致死的な粘膜病発症に共同して働くことが知られている。これに対し、培養細胞では cp 型ウイルスは細胞死を誘導するが、ncp 型ウイルスは直接的变化を示さない。この細胞死はアポトーシスによることが報告されているが、いまだその詳細は不明である。また、ncp 型ウイルスは複数のタイプ I インターフェロン誘導阻害活性を示すことが明らかとなっており、このインターフェロン誘導阻害活性の結果、ncp 型ウイルスは持続感染を起こし、この理由もあってウイルス学的、遺伝学的な面から C 型肝炎ウイルス (HCV) のモデルと考えられている。

BVDV の NS4A は 64 アミノ酸よりなる分子量 7 kDa の蛋白であり、HCV NS4A とサイズ、アミノ酸組成、疎水性などが類似している。HCV NS4A は NS3 セリン・プロテアーゼの必須コファクターで、他の非構造蛋白質とともにウイルス複製複合体の一部をなす。HCV NS4A は様々な宿主細胞シグナル伝達経路と相互作用することが知られているが、BVDV NS4A については全く知られていない。このため、申請者は BVDV NS4A と宿主細胞因子の相互作用を分子生物学的に解析した。

第 1 章および 2 章では、申請者はイースト・2 ハイブリッド法を用いて BVDV NS4A と相互作用する 2 種の RNA ヘリケース蛋白 (RIG-I と MDA5) を同定した。RIG-I と MDA5 は、ウイルス RNA によるタイプ I インターフェロン誘導における主要な細胞側レセプターである。BVDV NS4A と 2 種の RNA ヘリケース蛋白との結合は、ncp および cp 型ウイルスの双方で確認され、NS4A の結合領域は RIG-I および MDA5 のヘリケース・C 末端領域であった。この領域は dsRNA との結合領域であることが知られている。多くのウイルスで MDA5 および/または RIG-I との結合から、インターフェロン産生抑制が起こることが知られており、BVDV NS4A の RIG-I および MDA5 結合でも同様の現象が認められた。これ

は、NS4A のインターフェロン制御能を示唆している。

第3章では、BVDV NS4A の細胞側結合パートナーとして ADAR (adenosine deaminase act on RNA) を同定した。ADAR は dsRNA の adenosine を inosine に変換することによる RNA editing に関与し、種々のウイルスで抗ウイルス活性を示すことが報告されている。BVDV NS4A と ADAR の結合を *in vivo* および *in vitro* で実証するとともに、NS4A における ADAR との結合部位が N 末端領域であることを確認した。さらに、ADAR 側の NS4A との結合部位は dsRNA 結合モチーフであることを明らかとした。このことは、NS4A は ADAR と dsRNA の結合を阻害することにより、抗ウイルス作用を無効化する役割を果たしていることを示唆している。

本博士論文で得られた成果から、BVDV NS4A の役割が複製複合体における働きのみならず、ウイルスと宿主細胞因子との相互作用において重要な役割を担っていることが明らかとなった。さらに、NS4A の N 末端領域はこれら作用において重要な機能を果たしている。NS4A の宿主細胞における結合パートナーは、dsRNA 結合蛋白であった。dsRNA は RNA ウイルス感染細胞内で形成され、宿主の自然免疫の引き金であることを考えると、今回の結果は BVDV NS4A の機能を理解するために、非常に示唆に富む結果である。

以上本論文は、BVDV の感染におけるウイルス非構造蛋白質 NS4A の機能を解析するため、NS4A が結合する宿主側因子を初めて同定したもので、NS4A が宿主細胞の抗ウイルス作用である自然免疫に影響を与えることを明らかとした。この結果は BVDV のみならず人の重要な病原体である HCV の病原性解析にも有用な知見を与えるものであり、学術上獣医学のみならず、医学にも貢献することが少なくない。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。