

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 今井 孝彦

本研究では、単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)感染細胞において、ウイルスプロテインキナーゼ Us3 がウイルスエンベローブ膜タンパク質 gB の輸送を制御するという現象の分子機構およびマウスにおける病原性への影響を明らかにすることを試みた。また、Us3 が宿主の膜タンパク質の輸送をも制御することを検証し、以下の結果を得ている。

1. マウス角膜接種モデルにおいて、Us3 による gB のリン酸化は、生体内におけるウイルス増殖および病原性発現に寄与することが明らかになった。
2. gB のリン酸化を特異的に認識するリン酸化抗体を作製し、リン酸化 gB の局在を調べたところ、gB は Us3 によるリン酸化を受け、細胞膜での局在が阻害されることが示唆された。また、エンドサイトーシスアッセイの結果、gB は Us3 によるリン酸化を受け、細胞表面から効率的にエンドサイトーシスされることが明らかになった。
3. gB のリン酸化はリン酸化部位の近傍にある二つのエンドサイトーシスモチーフ(Di-Leu871-872 と Tyr889)と協調して、gB の効率的なエンドサイトーシスおよび厳密な細胞表面量制御に寄与することが示唆された。
4. gB の輸送シグナル配列への変異導入によりマウスにおける神経病原性が著しく低下したことから、gB の厳密な輸送制御がマウスにおける神経病原性に寄与していることが示唆された。
5. 宿主獲得免疫の中樞を担う膜タンパク質である MHC class I の輸送が、Us3 によって阻害されることが示された。
6. Us3 による MHC class I の細胞表面量抑制により、in vitro において細胞傷害性 T 細胞(CTL)の活性化が抑制され、in vivo において CTL の誘導が阻害された。さらに CD8 depletion により、Us3 による CTL からの回避がマウスにおける効

率的なウイルス増殖に重要であることが示唆された。

7. Us3 のキナーゼ活性を消失した変異体である YK511(Us3-K220M)を免疫したマウスの膺および角膜に野生体ウイルスを接種し、病原性を確認したところ、病態および致死率の著しい減弱が認められたことから、YK511(Us3-K220M)にはワクチン効果があることが明らかになった。さらに、YK511(Us3-K220M)とその復帰株をマウス角膜に接種し、30 日後の三叉神経節におけるウイルス DNA 量を調べたところ、YK511(Us3-K220M)は復帰株と比して著しく潜伏能が低下しており、ワクチンとしての利用を考えた際、YK511(Us3-K220M)は安全である可能性が示唆された。

以上、本論文は HSV-1 型感染細胞においてウイルスがコードするプロテインキナーゼがウイルスおよび宿主の膜タンパク質の輸送を制御し、ウイルスの病原性および宿主免疫回避に寄与することを明らかにした。本研究は、これまでほとんど知見の無かった HSV-1 の病原性発現機構の一端を解明し、さらに今日まで確立されていない HSV-1 に対するワクチン開発への応用に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると思われる。