

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ノラストット バンブーム

アカバネウイルス (AKAV) はブニヤウイルス科オルトブニヤウイルス属に分類され、三分節マイナス鎖 RNA ゲノムをもつエンベロープウイルスである。この科には人に強い病原性をもつクリミアコンゴ出血熱ウイルスなどが含まれるが、動物に対しても病原性を示すウイルスが数多く分類されている。AKAV の感染によるアカバネ病はわが国の畜産において重要な疾病の一つであり、牛やめん山羊に繁殖障害 (死流産、新生子奇形) を引き起こし多大な経済的損失を発生させる。一方、最近ヨーロッパで、AKAV に類似した新奇のブニヤウイルスが出現し多数の家畜が犠牲となった。このようにブニヤウイルスの感染は新興感染症という見地からも畜産業における地球規模での脅威となっている。しかし、その感染制御法や疾病予防・治療法の開発に必要となるウイルス学的な知見は十分には得られていない。本論文では、AKAV の宿主細胞への感染機構について、ウイルスと細胞因子との相互作用の解析に焦点を絞り研究を行った。

第一章では、AKAV の細胞侵入機構について解析した。エンベロープウイルスの多くは細胞レセプターに吸着し、エンドサイトーシスによりエンドソームに取り込まれ、エンベロープとエンドソームとの膜融合を経て遺伝物質が細胞質内に侵入する。いくつかのブニヤウイルスでも同様な機構が報告されているが、AKAV に関する情報はない。申請者は、各エンドサイトーシス経路を特異的に阻害する薬剤を利用し AKAV の侵入動態を解析した。その結果、非牛由来の培養細胞ではクラスリン依存性経路でウイルスが侵入するのに対し、牛由来の培養細胞ではクラスリンに依存しないことを発見した。さらに、牛由来細胞への侵入はラフトとダイナミンに依存し、カベオラ、微小管などは必要としないこと、ウイルスの脱殻には低 pH のエンドソーム環境が重要であることを発見した。また、AKAV の強毒株と弱毒株の間には細胞侵入機構に違いが見られないことを証明した。これらの成績は、他のブニヤウイルスとは異なる AKAV のユニークな細胞侵入機構を示唆しており、今後の解析に新たな手掛かりを提供する知見である。

第二章では、AKAV の侵入から粒子組立てまでの細胞内動態を解析した。申請者は、他のウイルスで重要性が示されている細胞骨格因子の役割に焦点を絞り、牛由来細胞を用いて、阻害薬剤処理に伴う動態変化をウイルス RNA 量やウイルス蛋白質の局在変化を指標に解析した。これらの解析手法は申請者自ら標準化した。その結果、アクチンや微小管は AKAV が細胞内に侵入しゲノ

ム複製部位までの輸送過程には必要ではないが、微小管と ER-Golgi 輸送因子はゲノム複製から粒子組立て過程に必要であることを発見した。これらの成績は、AKAV 感染における細胞骨格因子、特に微小管の重要性を初めて報告するものであり、ブニヤウイルス複製機構の全体像解明に寄与する知見である。

第三章では、AKAV の複製分子機構の一端を明らかにする目的で、ウイルス蛋白質 NS_m と細胞性因子との相互作用を解析した。M 分節ゲノムにコードされる非構造蛋白質 NS_m はウイルスの複製効率に関与し、ミトコンドリア輸送制御因子 TRAK2 と相互作用する。申請者は、牛細胞由来 bTRAK2 と NS_m の結合性状の解析のため GST や FLAG タグを付加しプルダウンや局在解析を実施した。その結果、NS_m は bTRAK2 の中央領域に結合すること、両者はウイルス組立ての場である核周囲領域に共局在することを発見した。これらの知見は、AKAV の複製にミトコンドリアが関与するというユニークなウイルス増殖機構の存在を初めて示唆するものである。

第四章では、AKAV 感染に伴う宿主応答の分子機構の一端を明らかにする目的で、ウイルス蛋白質 NS_s について解析した。S 分節にコードされる非構造蛋白質 NS_s にはインターフェロン IFN 拮抗作用があるとされる。申請者は、この作用がウイルス病原性を規定している可能性を考え、強毒株と弱毒株の NS_s 間にあるアミノ酸の相違に着目した。リバーシジェネティクス法により NS_s に種々の変異をもつ組換えウイルスを作製し、増殖性状と IFN 誘導性 Mx1 遺伝子発現について解析した。その結果、NS_s の 73 番目のアミノ酸が牛由来細胞における IFN 拮抗作用を制御していることを発見した。今後、シグナル伝達における細胞性因子との相互作用の解析により AKAV の病原性発現機構の解明につながる成果である。

以上本論文により、AKAV 独自の感染侵入機構、細胞内動態、およびそれらを制御するウイルス側因子と細胞性因子との相互作用、さらには病原性発現機構の一端が初めて明らかとなった。これらの成果は、AKAV 等ブニヤウイルス感染機構の解明、ひいてはそれらの感染防御法や治療法の開発に多大な貢献を示すのみならず、ウイルス学の新たなブレイクスルーとなる内容も含まれている。つまり、学術上獣医学のみならず医学への貢献も少なくないと判断する。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。