

審査の結果の要旨

氏名白濱 新多朗

本研究は急性網膜壊死の原因ウイルスである単純ヘルペスウイルス 1 型 (herpes simplex virus type 1 : HSV-1) に着目し、HSV-1 の増殖に寄与する宿主由来長鎖ノンコーディング RNA (long non-coding RNA : lncRNA) の同定を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. HSV-1 感染後に発現上昇する宿主由来 lncRNA を同定するために、HSV-1 感染させた視細胞を用いたトランスクリプトーム解析により、HSV-1 感染後に 2 倍以上の発現上昇を確認できた lncRNA を合計で 19 個同定した。さらに同定 lncRNA の中で HSV-1 感染後の発現上昇率が上位 5 つの遺伝子に着目し、同遺伝子の急性網膜壊死の疾患モデルマウス網膜における発現を解析した。その結果、U90926 のみが有意に発現上昇していた。
2. U90926 ノックダウンが HSV-1 のゲノム DNA 複製および増殖に及ぼす影響を評価したところ、U90926 ノックダウン細胞はコントロール細胞と比較して、著明にゲノム DNA 複製ならびに増殖が抑制された。さらに、U90926 過剰発現が HSV-1 のゲノム DNA 複製に及ぼす影響を評価したところ、U90926 過剰発現細胞はコントロール細胞と比較して、著明にゲノム DNA 複製が促進された。これらの結果は、HSV-1 のゲノム DNA 複製ならびに増殖が、U90926 の発現上昇によって促進されることを示唆している。
3. U90926 ノックダウンが HSV-1 感染後の宿主細胞生存率に及ぼす影響を評価したところ、U90926 ノックダウン細胞はコントロール細胞と比較して、著明に細胞生存率が上昇した。この結果は、U90926 の発現上昇が HSV-1 の増殖を促進することで、宿主細胞死を誘導していることを示唆している。
4. U90926 ノックダウンがウイルス遺伝子発現に及ぼす影響を評価した。HSV-1 のゲノム DNA 複製は、HSV-1 初期遺伝子の発現によって開始され、HSV-1 初期遺伝子の発現は HSV-1 前初期遺伝子の発現に依存するとされる。そこで、U90926 ノックダウンが HSV-1 前初期遺伝子である ICP-0 および ICP-4 の発現に及ぼす影響を評価したところ、U90926 ノックダウン細胞はコントロール細胞と比較して、ICP-0 および ICP-4 の発現量が著明に低下していた。さらにウエスタンブロッティング法を用いたタンパク質レベルの解析において、コントロール細胞では ICP-0 および ICP-4 タンパク質が検出されたが、U90926 ノックダウン細胞では検出されなかった。これらの結果は、U90926 の発現上昇が HSV-1 前初期遺伝子である

ICP-0 および ICP-4 の発現を促進することで、HSV-1 のゲノム DNA 複製を促進していることを示唆している。

5. HSV-1 感染時に U90926 によって制御される宿主側遺伝子を、次世代シーケンサーを用いて網羅的に探索し、最終的に 396 遺伝子を同定した。同定遺伝子のオントロロジーエンリッチメント解析の結果、分子機能に関する遺伝子オントロロジー用語では、同定遺伝子は、「CXCR ケモカイン受容体結合」、「ケモカイン受容体結合」、「ケモカイン活性」、「ケモカイン活性」、「サイトカイン活性」などの免疫機能に関連する遺伝子が有意に濃縮されていた。これらの結果は、HSV-1 感染後に U90926 の発現が誘導され、ウイルス増殖が促進されることで、宿主の免疫応答を活性化させていることを示唆している。

以上、本論文は HSV-1 の視細胞におけるゲノム DNA 複製ならびに増殖に寄与する宿主由来 lncRNA として、lncRNA-U90926 を新規に同定した。U90926 の発現を阻害することにより、HSV-1 の増殖が抑制されることで、宿主細胞生存率が著明に上昇することから、本研究結果は HSV-1 を原因ウイルスとする急性網膜壊死に対する抗ウイルス薬の新規開発基盤を提供し得るものである。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。