

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 内田 翔太郎

ニパウイルス (NiV) はヒトに致死的な脳炎を引き起こすことが知られているが、その病原性発現の分子機構は明らかになっていない。本研究は、病原性発現に重要な機能を果たしていると考えられている V タンパク質、および非翻訳領域の機能解析を試みたものであり、下記の結果が得られている。

1. 免疫沈降法により、V タンパク質の新たな相互作用因子として UBXN1 を同定した。部分欠損変異体を用いた相互作用解析の結果、V タンパク質は C 末端のジンクフィンガー領域を介して UBXN1 と相互作用することが明らかになった。過去に、UBXN1 は宿主インターフェロン (IFN) 産生を負に制御する機能を有することが報告されていた。そこで V タンパク質が UBXN1 の発現に与える影響を解析したところ、V タンパク質は UBXN1 の分解を抑制し、安定化する機能を有することが明らかになった。さらに、V タンパク質によって安定化した UBXN1 は MAVS と相互作用し、宿主 IFN 産生を抑制することが示された。これらの結果から、V タンパク質は UBXN1 を安定化することで宿主 IFN 産生を抑制する機能を有することが示唆された。
2. NiV と共にパラミクソウイルス科に属する麻疹ウイルス (MV) の V タンパク質が UBXN1 の発現に与える影響を解析したところ、UBXN1 は MV の V タンパク質によっても安定化されることが明らかになった。そこで、NiV の代わりに MV のマウス神経病原性モデルを用いて、V-UBXN1 相互作用の病原性発現における重要性を検討した。アラニン置換変異体を用いた相互作用解析によって、V タンパク質の C 末端領域に含まれているトリプトファン残基 (W240) が UBXN1 との相互作用に特異的に重要であることを見出した。この変異をげっ歯類脳に馴化させた組み換え MV CAMPH 株に加え、新たな組み換えウイルスを作出した (W240R 株)。CAMPH 株と W240R 株をそれぞれマウスの脳に接種し病原性を確認したところ、W240R 株は弱毒化していることが明らかになった。感染脳の病理学的解析および定量 PCR アッセイの結果、W240R 株の脳内における増殖および伝播は低下しており、親株感染時と比較し W240R 株感染脳では IFN 産生が強く誘導されていることが示された。これらの結果から V-UBXN1 相互作用が、神経病原性の発現において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。
3. NiV の 6 つの遺伝子の 5'非翻訳領域 (5' UTR) の機能を解析した。各 5' UTR を含むレポータープラスミドを作成しレポーターアッセイを行ったところ、M 遺伝子の 5' UTR (M 5' UTR) はタンパク質翻訳を促進し、F および G、L 遺伝子の 5' UTR はタンパク

質翻訳を抑制する機能を有していることが明らかになった。M 5' UTR の部分欠失レポーターを用いたレポーターアッセイの結果、M 5' UTR の活性部位は 81-100 塩基に存在し、この領域は効率の良い M タンパク質の発現とそれによって引き起こされるウイルスの発芽に重要であることが示された。また RNA プルダウンアッセイの結果 M 5' UTR の相互作用因子として EEF1B2 を同定した。レポーターアッセイおよび競合的 RNA プルダウンアッセイの結果、EEF1B2 は M 5' UTR の 81-100 塩基に結合し、特異的に翻訳効率を促進していることが示された。

以上、本論文は NiV の V タンパク質の新規機能、および 5' UTR による遺伝子発現制御機構を明らかにしたものであり、NiV の病原性発現メカニズムの解明に大きな知見を与えたと考えられる。よって申請者は学位の授与に値すると考えられる。