

博士論文要旨

サイトメガロウイルスの感染防御回避機構の解析

馬島 龍一

サイトメガロウイルス (CMV) はヘルペスウイルス科 β ヘルペスウイルス亜科 (以下、 β 亜科) に属するゲノム長約 230 kb の 2 本鎖 DNA ウイルスである。ヒトを宿主とするヒト CMV (HCMV) は胎児に経胎盤感染し、小頭症などの出生時障害、難聴や発達遅滞などの長期的後遺症を引き起こすが、実用化されたワクチンはない。ワクチン開発を遅らせる原因として、CMV は自然宿主にしか感染しないため個体レベルでの解析には制約が多いこと、そして、小動物で唯一経胎盤感染を起こしヒトの病態を反映するモデルとして有用なモルモット CMV (GPCMV) の免疫学的・分子生物学的研究が不十分であることが挙げられる。本研究では、胎盤における宿主の感染防御機構、およびそれを回避するウイルスの機構に関与すると思われる GPCMV 遺伝子の同定と機能解析を通して、CMV の感染防御回避機構を明らかにする。

第 1 章 β 亜科ウイルスのゲノム構造比較に基づく感染防御回避遺伝子の推定

GPCMV ゲノムの機能未同定領域に対して cDNA 配列解析を行い、 β 亜科の各属を代表するウイルスのゲノム上にマッピングした。機能既知の周辺遺伝子との相対的な位置関係から、感染細胞のアポトーシスや NK 細胞の活性化といった宿主の感染防御機構を回避する機能が推測される GPCMV 遺伝子を抽出した。その一部について欠損・修復組換え GPCMV (以下、欠損株・修復株) を作製し、以下の解析に用いた。

第 2 章 GPCMV GP38.1 の機能解析

GP38.1 欠損株感染細胞では死細胞が増加し、ウイルス収量が低下したことから、

GP38.1 はアポトーシスを抑制し感染を維持する機能を有すると考えた。アポトーシス経路の下流から順に、核 DNA の断片化、カスパーゼ 3 活性、ミトコンドリア膜透過性、Bcl-2 ファミリータンパク質 BAX および BAK との相互作用について検討した結果、GP38.1 は BAX と相互作用しアポトーシスを部分的に抑制することを明らかにした。HCMV は BAX, BAK の両方と相互作用し強い抑制を示す遺伝子を有すること、マウス CMV は BAX, BAK をそれぞれ抑制する異なる 2 つの遺伝子を有することから、BAK を標的とする別の GPCMV 遺伝子の存在が示唆された。

第 3 章 GPCMV GP119.1 の機能解析

GP119.1 はウイルス粒子中に存在する糖タンパク質であり感染細胞では小胞体や細胞膜に局在した。さらに、GP119.1 はモルモット IgG Fc と特異的に結合したことから、IgG Fc 受容体 (FcγR) を介した NK 細胞の抗体依存性細胞傷害 (ADCC) を阻害する作用が推測された。GP119.1 欠損株・修復株の感染動態は、培養細胞や急性感染期の非妊娠動物では差がないため、GP119.1 に IgG 結合非依存的な機能はないことが示唆された。ウイルスがコードする FcγR (vFcγR) による IgG 結合依存的な個体レベルの生理機能は他のウイルスを含め実証されておらず、今後、GPCMV 特異的 IgG 存在下で GP119.1 欠損株・修復株の感染動態を解析可能な系の構築を目指すことが鍵となる。

β 亜科のウイルスは、遺伝子配列に明確な相同性がなくとも宿主の感染防御を回避するための類似した機能を保持していた。本研究で着目したアポトーシスや NK 細胞に関連するウイルスの回避機構は、一過性の形成と崩壊が主に NK 細胞により調節される胎盤組織での宿主との攻防において重要である。本研究から得られた知見、および明らかになった検討課題から得られる知見が、CMV 感染の詳細な機序の理解と先天性 HCMV 感染症に対するワクチン開発に寄与することが期待される。

論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	馬島 龍一 (岐阜県)
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 第 1 8 8 号
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	サイトメガロウイルスの感染防御回避機構の解析
論文審査委員	(主査) 五十里 彰
	(副査) 中西 剛
	(副査) 田中 宏幸

本論文は、サイトメガロウイルス (CMV) の感染防御回避機構の解明を目的として、モルモット CMV (GPCMV) の機能未同定遺伝子について、分子生物学的手法を用いた機能解析及び感染動物モデルを用いた病態解析を行った結果をまとめたものである。

CMV が属する β ヘルペスウイルス亜科 (β 亜科) の遺伝子との配列相同性はないものの、ゲノム上の位置関係から感染防御回避に関連しうる GPCMV 遺伝子群を同定した。そのうち、GP38.1 はアポトーシス促進性タンパク質 BAX を介してアポトーシスを部分的に抑制することを見出した。また、GP119.1 はウイルス粒子中に存在し、IgG Fc 領域と特異的に結合すること、個体レベルでは IgG に非依存的な機能はみられないことを解明した。このため、IgG に依存したナチュラルキラー (NK) 細胞による抗体依存性細胞傷害からの回避という β 亜科の感染動物モデルでは、未証明の課題に取り組む必要性が明らかになった。

以上より本研究は、アポトーシスや NK 細胞に関連するウイルスの回避機構が、明確な配列相同性がなくとも β 亜科ウイルス間で保持され、宿主との攻防に重要である可能性が高いことを示した。本研究成果は CMV 感染機序解明と CMV ワクチン開発に寄与すると考えられることから、博士 (薬学) の論文として価値あるものと認める。