

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	NG CHEN SENG
論文題目	INHIBITION OF HOST INNATE IMMUNE RESPONSES THROUGH THE MODULATION OF CYTOPLASMIC STRESS GRANULES BY ENCEPHALOMYOCARDITIS VIRUS PROTEINASE (脳心筋炎ウイルス (EMCV) プロテアーゼによる細胞性ストレス顆粒形成の制御と抗ウイルス自然免疫応答の阻害機構)		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞は様々な生育環境の変化を感知して応答を示す。ストレスに対して細胞は速やかに応答してRNA蛋白質複合体を形成し、翻訳を一次的に停止することが知られている。この複合体の中にはmRNA、不活性型のリボソームサブユニット、多くのRNA結合蛋白質が凝集しており、ストレス顆粒 (SG) と総称されている。申請者の所属する研究室の先行研究によって、ウイルス感染がストレス顆粒様の凝集体形成を誘導することが報告されている。さらにその凝集体にはウイルスRNAセンサーであるRIG-I-like receptorが局在することも明らかとなっている。特にインフルエンザAウイルスの場合、野生型ウイルスの感染においてウイルスの非構造蛋白質であるNS1がこの凝集体形成ならびにI型インターフェロン (IFN) の誘導を強く阻害することが明らかになっている。そこで、このウイルス感染の結果誘導されて来る凝集体をvirus-induced SG (vSG) と称することにした。</p> <p>本研究で申請者は多種類のRNAウイルスならびにDNAウイルスの感染によるvSG形成を解析した。方法としては、vSGに局在し、凝集体形成に必要な蛋白質G3BP1に蛍光蛋白質を付加した融合蛋白質を用いて生細胞でのvSG形成を観察した。その結果、個々のウイルスに特有のvSG形成が誘導され、その形成パターンはいくつかに類別することができた。その中で脳心筋炎ウイルス (EMCV) は一過的なvSGの形成を示したため、その消失機構とその意義の解明を目指した。既にポリオウイルスが自らコードするプロテアーゼ3CによってG3BP1を切断すること、その切断によって凝集体の形成を阻害することが報告されていたが、vSG形成阻害の生理的な意義は不明であった。申請者による解析の結果、EMCVにおいてもウイルスの3Cプロテアーゼが感染後期にG3BP1を特定の部位で切断することによってvSGを消失させることが判明した。切断抵抗性のG3BP1を発現した細胞ではvSGは消失せず、感染細胞からのIFN産生が高く維持されること、同時にウイルス増殖が著しく阻害されることを見出した。またウイルスの二重鎖RNA並びにRIG-I-like receptorの1つであるMDA5のvSGへの局在が観察された。EMCV感染の場合、二重鎖RNA依存性の蛋白質キナーゼであるPKRがvSGの形成に必要なことも示された。以上より、EMCV感染の場合、PKRがウイルス二重鎖RNAを感知してvSGの形成を誘導すること、そしてvSGに局在したウイルス二重鎖RNAを同じくvSGに局在するMDA5が効率的に認識することが示された。さらにMDA5による認識がシグナルを伝達し、IFN並びに抗ウイルス蛋白質の発現を誘導した結果、ウイルスの増殖が抑制されることが強く示唆された。また、EMCVは3Cプロテアーゼの活性によってこの反応を感染後期に抑制し、これによって自らの効率的な増殖を図っていることが明らかとなった。本研究結果はvSGの誘導が感染細胞における抗ウイルス応答の重要な一端を担っていることを初めて示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文はウイルス感染時に惹起されるストレス応答のひとつであるストレス顆粒様の凝集体 (vSG) の形態、形成機構および機能の解析を行ったものである。

最初に蛍光蛋白質をプローブとして用いて生細胞における vSG 形成パターンを解析する系を確立し、それを用いて異なるウイルスの感染時におけるストレス応答を検討した。その結果、ウイルス・宿主細胞の組み合わせによって、宿主のストレス応答による vSG の形成パターンが異なることを明らかにした。系統的にこのような解析を行った例は少なく、多様なウイルスの感染に対する宿主細胞の応答研究において重要な研究成果であると考えられる。

次に、その中でも vSG の一過性の形成を誘導する脳心筋炎ウイルス (EMCV) を用いてその一過性の形成の分子機構ならびにその生理的意義を明らかにした。ウイルスのコードするタンパク質分解酵素である 3C が vSG の形成・維持に重要な蛋白質 G3BP1 を切断することによって vSG 形成を抑制することを生化学的、分子生物学的に証明した。そして、vSG 消失の結果、宿主細胞の免疫応答、特にインターフェロンなどの産生低下、ウイルス増殖の増大が引き起こされることを実験的に示した。すなわち EMCV による vSG 形成阻害はウイルス増殖の促進に重要であることを明確に示した。また、EMCV によって形成される vSG にウイルスの二重鎖 RNA ならびにそのセンサーである MDA5 が局在することを示した。このことは vSG が自然免疫の活性化の場を提供することを強く示唆するものである。RNA ウイルスの感染時に、MDA5 を含むウイルス RNA センサーである RIG-I-like receptor がウイルス RNA を認識して、インターフェロンの産生を誘導することは広く知られているが、この反応を効率的に実行する場として vSG を明確に示し、EMCV が vSG の形成を阻害することによって自らの増殖を促進することを初めて明らかにしたことは、高く評価できる。

本論文は抗ウイルス自然免疫研究の分野における優れた成果であり、その新たな理解に寄与する発見、概念が示されている。論文の記述は論理的であり、一貫性を持ってデータの提示および討論がなされている。以上より本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。

平成26年8月4日本論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日