



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on steric shielding of cell surface proteins by filovirus envelope glycoproteins [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	野依, 修
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11284号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56166
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Osamu_Noyori_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：野 依 修

審査委員	主査	教授	高	田	礼	人
	副査	教授	鈴	木	定	彦
	副査	教授	澤		洋	文
	副査	教授	東		秀	明

学位論文題名

Studies on steric shielding of cell surface proteins by filovirus envelope glycoproteins
(フィロウイルスエンベロープ糖蛋白質による細胞表面分子の
立体的遮蔽現象に関する研究)

エボラウイルス (EBOV) およびマールブルグウイルス (MARV) はフィロウイルス科に属し、ヒトを含む霊長類に重篤な出血熱を引き起こす。ウイルス種あるいは株間で病原性に違いがみられ、ヒトに対して病原性を示さないと考えられているウイルスが存在する一方で、90%もの致死率を示すウイルスも存在する。これまでの知見から、フィロウイルスのエンベロープ糖蛋白質 (GP) の機能が病原性発現に強く関わっている事が示唆されている。GP 単量体は宿主プロテアーゼによって開裂されたサブユニット (GP1 および GP2) から成り、GP1/GP2 が 3 量体を形成してエンベロープおよび細胞膜上に存在する。また、GP には非常に多くの糖鎖付加部位が存在し、特に N 型と O 型糖鎖付加部位の両方が集中している mucin-like region (MLR) は、GP の立体構造上非常に大きな領域を占めると考えられている。近年、フィロウイルス GP 発現細胞の膜表面において、MLR が major histocompatibility complex class I (MHC I) および integrin $\beta 1$ 等の宿主細胞表面分子を立体的に覆い、リンパ球の活性化や細胞接着を阻害する現象 (立体的遮蔽効果) が報告された。そこで本研究では、GP による立体的遮蔽効果の病原性への関与に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

第一章では、ヒトに対して病原性が異なると考えられているフィロウイルス間で、MHC I および integrin $\beta 1$ 分子に対する GP の遮蔽効率を比較した。その結果、EBOV 属のうち、ヒトに病原性を示さないと考えられている Reston 種よりも、病原性が最も高いとされる Zaire 種の GP の方が integrin $\beta 1$ に対して高い遮蔽効率を示すことが明らかとなった。また、MARV においても同様に、流行時の致死率が最も高かった Angola 株 GP の方が Musoke 株 GP よりも遮蔽効率が高いことが分かった。MHC I 分子に対しても、Angola 株と Musoke 株の GP の間で遮蔽効率の違いが認められた。次に、GP の遮蔽効率に寄与する領域を特定するため、MLR 欠失 GP および遮蔽効

率の異なるウイルス間で MLR、GP1 および GP2 領域を入れ換えた変異体 GP を作成し、両宿主因子に対する遮蔽効率を比較した。その結果、MLR 欠失 GP では遮蔽効率が顕著に低下するが、遮蔽効率の異なるウイルス間で互いに MLR を入れ換えても遮蔽効率は逆転しない事ならびに GP2 領域が重要である事が明らかとなった。一方、MARV の GP2 サブユニットに存在する 547 番目のアミノ酸を Angola 株と Musoke 株間で入れ換えた変異体 GP において、integrin $\beta 1$ に対する遮蔽効率の逆転が観察された。547 番目のアミノ酸は、3 量体を形成する GP の外側を覆うように存在する internal fusion loop を構成するアミノ酸の一つであることから、GP の遮蔽効率は MLR のみではなく、GP 分子全体の構造安定性によって総合的に決定されたと考えられた。

第二章では、Fas 分子を介するアポトーシスシグナルに対する立体的遮蔽効果の影響を解析した。調べた全てのウイルスの GP 発現細胞において Fas 分子に対する立体的遮蔽効果が観察され、Fas 分子に対する立体的遮蔽効果はフィロウイルス感染細胞に広く共通する現象であると考えられた。さらに、それらの GP 発現細胞において、抗 Fas 抗体刺激によるアポトーシスシグナルが減弱し、死細胞数が有意に減少することが明らかとなった。一般に、宿主は感染防御機構の一つとして感染細胞にアポトーシスを誘導し、ウイルスの拡散を制御していると考えられている。本研究の結果から、フィロウイルス感染細胞膜表面上の GP は、Fas 分子を立体的に遮蔽し、ナチュラルキラー細胞や細胞傷害性 T リンパ球等による感染細胞のアポトーシス誘導を回避させる機能をもつ可能性が示唆された。

本研究により、GP による遮蔽効率とフィロウイルスの病原性との間で相関が明らかとなったことから、立体的遮蔽効果はフィロウイルスの病原性発現に関与している可能性が示唆された。感染防御機構および細胞の恒常性維持に関わる宿主因子に対する立体的遮蔽効果の詳細な解析によって、抗ウイルス薬開発のための重要な知見が得られるものと期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者野依修氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。