



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the virulence factor involved in the pathogenicity in tick-borne encephalitis virus infection [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	境, 瑞紀
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11737号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59313
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mizuki_Sakai_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：境 瑞 紀

審査委員	主査 教授	荻 和 宏 明
	副査 教授	澤 洋 文
	副査 准教授	好 井 健 太 朗
	副査 講師	長 谷 部 理 絵

学位論文題名

Studies on the virulence factor involved in the pathogenicity in tick-borne encephalitis virus infection

(ダニ媒介性脳炎ウイルス感染における病原性発現に關与するウイルス側因子に關する研究)

ダニ媒介性脳炎ウイルス(TBEV)はフラビウイルス属に分類され、人に重篤な脳炎を起こす人獣共通感染症の原因ウイルスである。ヨーロッパ諸国とロシアを中心に年間約10,000人の患者が報告されているが、TBEVの病原性発現メカニズムはほとんど明らかにされていない。本ウイルスにはヨーロッパ型、シベリア型、極東型の3つのサブタイプが存在し、それぞれ異なる病態を示す他、同一のサブタイプにおいても株間で異なる病原性を有する株が報告されている。日本の患者発生地域の犬から分離された0shima5-10株(0shima株)は、遺伝子解析により高病原性の極東型に分類されるが、ロシアの脳炎患者由来である極東型標準株のSofjin-H0株(Sofjin株)よりもマウスに対する病原性は低い。本研究では高病原性のSofjin株のウイルスゲノムを11領域に分け、これらを低病原性の0shima株に導入した各種のキメラウイルスを作製し、病原性の相違に關わるウイルス側因子の特定とTBEVの病態発現機構の解明を試みた。

各種のキメラウイルスをマウスに皮下接種し、その病原性を親株である0shima株と比較したところ、一部の非構造蛋白、及び5'-、3'-非翻訳領域(UTR)をSofjin株と入れ替えたキメラウイルスで病原性の上昇が見られた。したがって、複数のウイルス側因子が病原性の上昇に關与していることが示唆された。その中でも、Sofjin株の3'-UTR variable regionを導入したキメラウイルスで、最も顕著な病原性の上昇が見られたことから、本領域が病原性発現に重要であることが明らかとなった。

3'-UTR variable regionは株間での多様性が高く、ヒトの患者由来株や、実験室継代を繰り返した株においては、本領域における欠損やpolyAの挿入が見られることが知られている。しかし、病態発現機構における本領域の役割はまだ明らかにされていない。RNAの二次構造予測を行った

ところ、Oshima株の3'-UTR variable region内には、6つのstem loop (SL) 構造が存在するのに対し、Sofjin株では2、3及び4番目のSL構造 (SL2、SL3及びSL4) が欠損していることが判明した。そこで、Oshima株からSL2及びSL3を含む領域、或いはSL4を含む領域をそれぞれ欠損させた変異ウイルスと、Oshima株の3'-UTR variable regionに、35塩基のpolyA配列を挿入した変異ウイルスを作製し、これらのウイルスとSofjin株及びOshima株をマウスに皮下接種し、病原性の比較解析を行なった。その結果、いずれの変異ウイルスの病原性もSofjin株と同程度に上昇する事が示された。その一方でマウス脳内での増殖性は、Sofjin株と比較して、Oshima株及び変異ウイルスで有意に低く、変異導入により脳内でのウイルス増殖性は上昇しなかった。したがって、3'-UTR variable regionへの変異導入により、脳内でのウイルス増殖性が上昇しないにも関わらず、マウスでの病原性が上昇する事が明らかとなった。また本領域内の特定のRNA配列や二次構造ではなく、本領域全体が構成するRNAの高次構造が病原性の相違に大きく関与していることが予想される。3'-UTRから産生されるsubgenomic flavivirus RNA (sfRNA)が、宿主のインターフェロン系に影響し、病原性に関与することが他のフラビウイルスで報告されている。そこで、Sofjin株、Oshima株もしくは変異ウイルスを感染させた培養細胞及び感染マウスの脳におけるsfRNAの産生を調べたところ、いずれのウイルスにおいてもsfRNAの産生量や長さには相違はなく、病原性とsfRNAの関連性は見られなかった。また、感染細胞中のインターフェロン(IFN)- β の誘導やIFN応答遺伝子群の発現についてもウイルス株の病原性との間に関連性は見られなかった。

以上の結果から、極東型 TBEV の株間の病原性の相違は、複数のウイルス側因子によって決定され、その中でも特に 3'-UTR variable region が重要であることが明らかとなった。さらに variable region 全体が構成する高次構造が、未知の病態発現メカニズムを介して病原性に関与することが示唆された。

これらの成績は、今後 TBEV をはじめとするフラビウイルスの病態発現機構の解明と、ワクチン及び予防・治療法の開発に大きく貢献するものとして高く評価される。よって審査員一同は、上記学位論文提出者 境瑞紀氏の学位論文は、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。