HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アデノウイルスの増殖にはARE-mRNAの安定化システムが必要である［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	鄭, 朱蒙 パトリック
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12163号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62196
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Jumond_Patrick_Jehung_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　氏名　鄭 朱蒙 パトリック

審査担当者	主査	教 授	進 藤　正 信
	副査	教　授	柴田　健一郎
	副査	教　授	田村　正人
	副査	准教授	東野　史裕

学位論文題名

アデノウイルスの増殖には宿主細胞のARE-mRNAの安定化と
HuRの核外輸送が必要である

審査は、審査員全員出席の下に、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口頭試問により行われた。審査論文の概要は以下の通りである。

ARE-mRNAは、いわゆる癌遺伝子やサイトカイン、増殖因子などの細胞増殖に関わる遺伝子に存在し、mRNA転写後すぐに分解されているが、細胞にストレスが加わるとRNA結合タンパクHuRがARE-mRNAに結合し安定化される。アデノウイルスの初期遺伝子E4orf6による細胞がん化にはARE-mRNAの恒常的な核外輸送・安定化が必須であることが解明されているが、このシステムとアデノウイルスの増殖にどのような関連が存在するかはいまだ不明である。申請者はアデノウイルスがARE-mRNAとそれに結合するHuRタンパクのウイルス増殖に及ぼす影響について検討した。Tet-offシステムを導入したHeLa細胞に*c-fos*遺伝子のARE領域を持つ*luciferase*遺伝子（*Luc-ARE*）を導入し、アデノウイルス感染後doxycycline処理をして*Luc-ARE*の発現を停止させ、継時的に*Luc-ARE* mRNAを定量しその半減期を測定したところ、アデノウイルスを感染により*Luc-ARE*の半減期が延長され、感染細胞ではARE-mRNAが安定化された。ウイルス遺伝子が欠損した変異型アデノウイルスの感染実験より、この安定化にはE4領域に存在するE4orf3およびE4orf6遺伝子が関与することが明らかになった。RNAi法によってHuRをknockdownさせたがん細胞にアデノウイルスを感染させるとウイルス増殖効率は1/3に減少した。さらに、プロテアソーム阻害剤処理によりアデノウイルスによるE3ユビキチンリガーゼ活性がARE-mRNA安定化に関与しているかについて検討したところ、ARE-mRNAの安定化とユビキチンプロテアソーム系の経路は別であることが明らかになった。

以上の結果は、アデノウイルスの増殖にはHuRを含むARE-mRNAの安定化システムが重要であることを示している。

論文の審査にあたって、論文申請者による研究の要旨の説明後、本研究ならびに関連す

る研究について質問が行われた。
主な質問事項は、以下の通りである。

1) AUUUA以外のAREモチーフはあるのか。
2) ARE-mRNAの分解は核・細胞質、どちらで起こっているのか。
3) HuR以外のファミリータンパクがARE-mRNAの安定化に関与していないか。
4) E4orf6によるARE-mRNAの細胞質における恒常的発現の意味。
5) アデノウイルス感染時のmRNAの減少と半減期の延長との関連について。
6) tet-off システムの作用時間と初期遺伝子の発現の関係。
7) HuRノックダウンによるアデノウイルス産生効率の測定法。
8) アデノウイルス感染と宿主のCTL誘導との関係はないのか。
9) 宿主細胞のARE-mRNAの安定化がウイルス増殖とどのように関わっているのか。
10)アデノウイルスの構造について。

いずれの質問についても、論文申請者から明快な回答が得られ、さらに、将来の研究の方向性についても具体的な回答が得られた。本研究は、アデノウイルスの増殖にHuRを介したARE-mRNAの安定化が重要であり、腫瘍溶解ウイルスの作用機序の一端を示した点が評価され、博士（歯学）の学位授与に値するものと認められた。