HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	The valosin-containing protein is implicated in West Nile virus replication and an examination of the pathogenicity of novel WNV strain isolated in Zambia [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Phongphaew, Wallaya
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第13074号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70681
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Wallaya_PHONGPHAEW_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（獣医学）　　氏名：Wallaya Phongphaew

審査委員	主査　教授	澤　洋文
	副査　教授	高田　礼人
	副査　准教授	好井　健太朗
	副査　講師	大場　靖子

学位論文題名

The valosin-containing protein is implicated in West Nile virus replication and an examination of the pathogenicity of novel WNV strain isolated in Zambia
（ウエストナイルウイルスの複製に関与するバロシン含有タンパク質に関する研究とザンビアで単離されたウエストナイルウイルスの病原性の検索）

ウエストナイルウイルス（WNV）は、ウエストナイル熱、ウエストナイル脳炎をヒト、ウマなどに起こすフラビウイルス科フラビウイルス属に属する、蚊媒介性の人獣共通感染症の病原体である。WNV は 1937 年にウガンダの症例から最初に単離され、現在ではアフリカ、アジア、中東、ヨーロッパ、オーストラリア、北米等、多くの国々にその感染が広まっている。米国では 1999 年から 2015 年の間に、約 44,000 人が感染したことが報告されている。

WNV は少なくとも 5 つの lineage に分類され、lineage 1 に属するウイルスはアフリカ、アジア、中東、ヨーロッパ、オーストラリア、南北アメリカで確認されている。lineage 2 に属するウイルスはサハラ砂漠以南のアフリカ、マダガスカル、近年はヨーロッパ、ユーラシアで検出されている。lineage 3 に関してはチェコで単離された株、lineage 4 はロシアで分離された株、lineage 5 はインドで分離された株が属している。

WNV は細胞にクラスリン依存性のエンドサイトーシスで細胞内に侵入し、エンドソームに輸送される。その後、エンドソーム膜の融合及び脱殻により細胞質内にウイルスゲノムが放出される。WNV のゲノムは小胞体膜由来の小胞内で複製すると考えられている。ウイルス粒子は小胞体内に出芽し、エクソサイトーシスにより細胞外に放出される。

valosin-containing protein (VCP)は II 型の adenosine triphosphatase-associated with diverse cellular activities (AAA+ ATPase)であり、シャペロンとして ER-associated degradation (ERAD)によるタンパク質の分解過程におけるタンパク質の輸送、または小胞輸送・融合等の機能を有するタンパク質である。VCP は幾つかの RNA ウイルスの増殖過程に関与していることが報告され

ており、ポリオウイルスやアイチウイルスの複製を亢進させること、また、シンドビスウイルスのエントリー受容体の細胞内輸送に関与して、シンドビスウイルスの増殖を亢進させること、伝染性気管支炎ウイルスの細胞内侵入過程に関与していることが示唆されている。さらにVCPはフラビウイルスに属するC型肝炎ウイルスの複製複合体と共局在を示しウイルスゲノムの複製を亢進させることが報告されている。

本研究の第一章ではVCPがWNVの増殖過程にどの様に関与するかを検索した。最初にVCPの阻害剤であるEer IおよびMDBN で細胞を処理した際に、WNVの感染効率が低下することを確認した。次に、VCPをknockdownした細胞にWNVを感染させた際に、感染効率が低下することを確認した。さらに、多段階増殖能を持たない組み換えWNVをVCP-knockdown細胞に接種した場合でも、感染が抑制されることが分かった。以上の結果から、VCPはWNVの細胞への侵入段階およびウイルスゲノムの複製段階において重要であることが推察された。

第二章では、アフリカのザンビアに生息する蚊におけるアルボウイルスの調査の結果、ネッタイイエカから単離されたWNV株のマウスに対する病原性を調べた。今回ザンビアで単離されたWNV株は南アフリカで確認されている株に類似しており、遺伝子型はlineage 2であった。本WNV株を、6週齢のC57BL/6JCr Slcマウスの腹腔内または脳内に接種し、ウイルス増殖と病原性を調べた。両投与法において、ウイルス接種後8日目から死亡するマウスが観察され、本WNV株はマウスに致死的感染を引き起こすことが分かった。また、腹腔内投与6日および9日後に安楽殺したマウスの脳から感染性を有するWNVが検出された。以上の結果から、アフリカで採集した蚊から単離したWNV株は、実験動物であるマウスに対して致死的であり、感染マウス個体において、抹消から脳血管関門を通過し中枢神経内に侵入することが示された。

本研究で得られた知見は、現在治療法が確立されていないWNV脳炎の治療法を開発する上での基礎的知見を提供するとともに、WNVの感染対策確立において重要な疫学的およびウイルス学的知見を提供した。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者Wallaya Phongphaew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。