



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Subcellular localization of nucleocapsid protein of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) and characterization of quasi-species of SFTSV [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Lokpathirage, Sithumini Madubashini Wimalasiri
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第15658号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90977
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Sithumini_MW_Lokpathirage_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（感染症学）氏名：Lokupathirage Sithumini
Madubashini Wimalasiri

審査委員	主査	教授	苅和	宏明
	副査	教授	中島	千絵
	副査	准教授	松野	啓太
	副査	准教授	新開	大史
	副査	准教授	吉松	組子

学位論文題名

Subcellular localization of nucleocapsid protein of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) and characterization of quasi-species of SFTSV (重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)の核蛋白の細胞内局在およびSFTSVの多種性の解析)

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は、新規に発見されたダニ媒介性の熱性疾患であり、東アジアを中心に流行している。致死率が6%-30%と高く、公衆衛生上の問題となっている。原因となるウイルスはブニヤウイルス目フェニユウイルス科に属する新規のウイルス SFTS ウイルス(SFTSV)であり、ウイルス学的基本情報は未だ十分ではない。

第一章ではウイルスのNおよびL蛋白質、ウイルスRNA(vRNA)の相互作用と、これらの複合体であるribonucleoprotein(RNP)complex形成におけるそれらの役割を理解することを目的とし、細胞内局在研究を実施した。レポーター遺伝子とMゲノムセグメントの非翻訳領域を両端に持つvRNAをウイルスRNAの機能的代替として使用し、ウイルス構成蛋白N、Lおよびエンベロープ糖蛋白(GP)とVero E6細胞で共発現させた。その結果、N蛋白がvRNAと相互作用し、機能的な複合体を形成し、さらにGPが存在する場合にER-ゴルジ中間コンパートメント(ERGIC)およびゴルジ体にN蛋白が見いだされることが明らかとなった。またGP存在下ではミニゲノムの転写活性が低下し、RNPの細胞内局在とその機能の関連を示す結果であると考えられる。これらの知見はSFTSVの細胞内での挙動について貴重な情報を提供するものである。

第二章では、SFTSV の多種性について検討した。YG1 株は日本で初めて特定された患者から分離された分離株である。GP を構成する二つの蛋白 Gn および Gc のうち Gn 上の変異 Y328H は患者血液の次世代シーケンス解析において 30%近くをしめる主要な変異であることが報告されている。しかしながらこの変異の持つ役割については未だ不明である。一方、限界希釈法で特定された Gc 上の変異 R624W は低 pH 依存性細胞融合と関連すること、L 上の変異 N1891K は細胞変成効果 (CPE) に関与することが明らかになっているが、これらの変異は患者血液の解析からは検出されていない。本研究では、これらの変異を単独で持つ組み換えウイルスを作出し、多種性の解析を進めた。その結果、Gn 上の変異 Y328H を持つウイルスは大型のプラークを形成し、この変異は感染の拡大に有利である可能性が示された。また、L 上の変異 N1891K を持つウイルスは明らかに CPE を誘導し、この変異が細胞死に関与することが示された。この変異 N1891K を持つウイルスによる細胞死は汎カスパーゼ阻害薬 Z-VAD-FMK で阻害されたことから、カスパーゼ依存性であることが示された。また、CPE を示すウイルスも示さないウイルスも、カスパーゼ 1 および 3 を誘導することが明らかとなったことから、L 上の変異 N1891K を持たない親株は、カスパーゼ 1 および 3 の誘導以降のなんらかの細胞死への過程を抑制している可能性が示された。そこで、親株の細胞への感染の、アクチノマイシン D によって Vero E6 細胞に誘導されるアポトーシスへの作用を調べたところ、細胞死に抑制的に働くことが明らかとなった。さらに親株を 10 倍量の L 上の変異 N1891K を持つウイルスとともに Vero E6 細胞に接種したところ CPE は認められず、変異ウイルスを押さえて親株が優勢に増殖することが明らかとなった。同様に、Gn 上の変異 Y328H および Gc 上の変異 R624W をそれぞれ単独で持つウイルスに対しても、親株は優位な増殖性を示した。本研究の結果は、変異を組み合わせることで変異ウイルスの生存率が高まり、新たな病原性ウイルスの出現につながる可能性を示唆するものである。

本研究で得られた結果は、SFTS のコントロールにつながる有用な知見であると考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者、Lokupathirage Sithumini Madubashini Wimalasiri 氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。