



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Structural insights into rabies virus-mediated host immune evasion via STAT1 inhibition by the P protein
Author(s)	南, 未来
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第16782号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16782
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99627
Type	doctoral thesis
File Information	Miku_Minami_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称: 博士 (生命科学) 氏 名 南 未来

審査担当者	主査	教 授	尾瀬 農之
	副査	教 授	比能 洋
	副査	准教授	北村 朗
	副査	准教授	上原 亮太

学 位 論 文 題 名

Structural insights into rabies virus-mediated host immune evasion via STAT1 inhibition by the P protein
(狂犬病ウイルスが P タンパク質をもちい STAT1 阻害を介したヒト免疫逃避をする機構の分子基盤)

博士学位論文審査等の結果について (報告)

狂犬病は致死的な神経症状を特徴とする人獣共通感染症であり、現在、撲滅に至っていない。有効な治療薬は存在せず、発症後の致死率はほぼ 100%であり、毎年約 5 万 9 千人が命を落としている。狂犬病の強毒性要因として、高度な免疫逃避経路を持つことが挙げられる。細胞生物学を用いた先行研究により、狂犬病ウイルスの P タンパク質の C 末端ドメイン (P-CTD) がヒトの転写因子である STAT1,2 と相互作用することで、抗ウイルス遺伝子の発現を阻害することが報告されている。これまでの報告は、細胞生物学的な知見にとどまり、分子基盤の理解は進んでいなかった。

本論文は、精製した組み換えタンパク質を用いた構造生物学的及び生化学的解析を通じて、P-CTD がどのように STAT1 を認識し阻害するのかという分子機構を解明したものである。加えて、1998 年以降、際立った進展が見られなかった STAT 分子に他する構造生物学として、四量体を機能単位として捉えることができたことは、顕著な結果といえる。P-CTD と各種 STAT1 の定量的な相互作用解析は、蛍光偏光解消法を用いておこなった。これらの結果から、P-CTD が STAT1 を認識するためには、pY-STAT1 が NTD、C 末端領域を含むすべての領域を持ち、四量体を形成できる必要があることが判明した。すなわち、P-CTD がリン酸化による二量体界面及び NTD による四量体化を認識していることが明らかになった。pY-STAT1 四量体がどのように会合しているのかを明らかにするために、クライオ電子顕微鏡を用いて pY-STAT1 四量体/DNA 複合体の構造解析を行った。その結果、pY-STAT1 四量体構造を分解能 3.8 Å で決定することに成功した。pY-STAT1 四量体構造はリン酸化による 2 つの二量体が二回回転対称の位置関係で相互作用していた。得られた pY-STAT1/DNA 複合体の四量体構造からは、細胞内で一本の DNA に 2 箇所 pY-STAT1 が結合するモデルを立てることができた。また、pY-STAT1 と P-CTD の相互作用様式を理解するために、クライオ電子顕微鏡を用いて pY-STAT1/P-CTD 複合体の構造解析を行った。その結果、分解能 3.0 Å で構造を決定することに成功し、アミノ酸レベルで両者の相互作用様式を明らかにした。得られた構造から pY-STAT1 四量体に対して P-CTD は 2 分子結合することを明らかにした。また、P-CTD は pY-STAT1 の 2 つの領域と相互作用していた。1 つ目の領域は pY-STAT1 の DNA

結合ドメインであり、P-CTD による STAT1 の DNA への結合阻害が構造からも説明できた。この領域はリン酸化によって形成される pYSTAT1 の二量体界面であり、P-CTD が pYSTAT1 の二量体化を認識していることが証明できた。2 つ目の領域は pYSTAT1 の NTD であった。この NTD は四量体を構成するもう一方の二量体に由来しており、P-CTD は pYSTAT1 を四量体として認識しているという相互作用解析の結果を構造からも説明することができた。加えて、pY-STAT1 の核内移行に重要である核局在化シグナルのアミノ酸残基は P-CTD との相互作用界面の近くに位置しており、pY-STAT1 の核輸送タンパク質の結合を阻害することを突き止めた。

加えて、P-CTD が pY-STAT1 の平衡状態に与える影響を明らかにし、さらに四量体認識に関わるアミノ酸残基の重要性を生化学的に検証するために、mass photometry を用いて pY-STAT1 の量体状態を解析した。その結果、野生型 P-CTD は pY-STAT1 の四量体形成を促進する一方、構造解析で特定された 1 つまたは 4 つの四量体認識残基に変異を導入した P-CTD 変異体では四量体形成促進能が低下していた。これらの結果から、P-CTD が pY-STAT1 四量体を安定化させることが示唆された。

これを要するに、著者は、P-CTD は STAT1 のリン酸化及び NTD による STAT1 の多量体化を認識していることを明らかにした。さらに、P-CTD が pY-STAT1 を阻害する機構は以下のように 3 点に渡っていることを解明した。1. P-CTD は pYSTAT1 の DNA 結合部位近傍に結合することで DNA への結合を阻害する。2. P-CTD は四量体を認識して pY-STAT1 四量体を安定化させることで、STAT1 の二量体への解離や機能的な四量体への移行を妨げ、結果としてタンデム DNA への協調的結合を抑制する。3. P-CTD は pY-STAT1 に結合することで核局在化シグナルを不活化し、pYSTAT1 の核内輸送を阻害する。このように、狂犬病ウイルスの免疫逃避メカニズムを明確に説明することが可能となったため、JAK-STAT 経路やそれに対する不活化を論じる上で、大きな貢献をおこなった。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。