



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular Basis of Pathogenicity of a Rabies Virus Street Strain
Author(s)	川口, 虹穂
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(獣医学)
Dissertation Number	甲第16955号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16955
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99800
Type	doctoral thesis
File Information	Nijiho_Kawaguchi_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（獣医学）

氏名：川口 虹穂

審査委員	主査 教授	迫田 義博
	副査 特任教授	荻和 宏明
	副査 教授	澤 洋文
	副査 准教授	佐々木 道仁

学位論文題名

Molecular Basis of Pathogenicity of a Rabies Virus Street Strain
(狂犬病ウイルス街上毒の病原性の分子基盤に関する研究)

狂犬病は、モノネガウイルス目ラブドウイルス科リッサウイルス属に属する狂犬病ウイルス (Rabies virus: RABV) によって引き起こされ、致死的な神経症状を主徴とする人獣共通感染症である。RABV の病原性は、ウイルスが末梢の咬傷部位から中枢神経系へ到達する「神経侵襲性 (neuroinvasiveness)」と、中枢神経系内で拡散し神経症状を引き起こす「神経病原性 (neurovirulence)」という二つの能力によって規定される。これまでに、RABV の病原性に関する研究の多くは主に神経病原性に焦点が当てられてきた一方で、神経侵襲性、すなわち末梢感染の成立から中枢神経系への移行機序に関しては、未だ知見が乏しい。その主たる要因として、従来の RABV 研究の多くが固定毒を用いて実施されてきたことが挙げられる。RABV は、野外で流行している街上毒と、ワクチン株や実験室株などの固定毒に大別される。固定毒は細胞や動物組織での継代を経ることで、街上毒と比較して潜伏期間の短縮や病態の均一化が認められる反面、神経侵襲性が著しく減弱しているなど、街上毒とは異なる性状を示す。従って固定毒を用いた研究で得られた知見が、必ずしも街上毒の病原性を反映しているとは限らない。このことから、自然感染における狂犬病の病態形成、特に末梢から中枢神経系への侵入機構を解明するためには、実際に野外で流行している RABV を用いた研究が極めて重要となる。本研究では、この課題に取り組むべく、RABV 街上毒の病原性発現機序、とりわけ筋細胞への感染性（筋指向性: myotropism）及び神経侵襲性を規定する分子基盤の解明を目的とした。

第一章では、フィリピンで犬による咬傷後に日本で狂犬病を発症した輸入症例から分離された街上毒である Toyohashi 株のウイルス学的性状を解析するために、本株のリバースジェネティクス (RG) システムの確立を試みた。再構成され

た組換え Toyohashi 株 (rToyo) は、培養細胞において親株と同程度の増殖性を示し、マウスを用いた感染実験においても、rToyo は、固定毒である Challenge virus standard (CVS) 株と比較して高い神経侵襲性並びに約 7 日間長く不定な潜伏期を示し、街上毒特有の性状を保持していた。次に、Toyohashi 株の phosphoprotein (P) 遺伝子に蛍光蛋白質を融合させた組換えウイルスを作製し、タイムラプス顕微鏡を用いた生細胞イメージングを実施した結果、組換えウイルス感染細胞の細胞質内にネグリ小体様構造が形成され、経時的に蓄積していく動態を可視化することに成功した。以上より、本研究で確立した RG システムが、RABV 街上毒の複製及び病原性の分子基盤を解明するための有用なツールであることが示された。

第二章では、確立した RG システムを活用し Toyohashi 株の筋指向性及び神経侵襲性を規定するウイルス因子の同定とメカニズムの解析について、街上毒 Toyohashi 株と固定毒 CVS 株間で筋指向性及び神経侵襲性を比較した。その結果、Toyohashi 株は CVS 株と比較して、筋芽細胞内でのより効率的な複製、マウス後肢筋組織における高い感染性、及び筋肉内接種後のマウスにおける高い致死率を示した。以上の結果より、街上毒である Toyohashi 株は CVS 株に比し、高い筋指向性及び神経侵襲性を有していることを確認した。続いて、この表現型に寄与する RABV 遺伝子を特定するため、RG システムを用いて、Toyohashi 株と CVS 株間で各構成遺伝子 (N、P、M、G、及び L) を一つずつ入れ換えた組換えキメラ RABV を作製した。その結果、G 及び L 遺伝子が Toyohashi 株の筋指向性及び神経侵襲性を規定する重要な因子であることが特定された。さらに、シュードタイプウイルス、ミニゲノムアッセイを用いて Toyohashi 株の G 及び L 蛋白質の筋感染における機能を解析し、G 蛋白質による筋細胞への効率的な侵入と、L 蛋白質による感染筋細胞内での複製・転写促進が協調的に作用することで、Toyohashi 株は筋細胞で効率良く増殖し、高い神経侵襲性を発揮していることを明らかにした。

本研究成果は、野外感染下での RABV 感染過程をより正確に理解するために街上毒を用いることの重要性を強く示唆しており、RABV 街上毒に共通する分子機構の解明や、ウイルス侵入・複製過程を標的とした新規治療法及び予防法の開発へと繋がることが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者川口 虹穂氏の学位論文は、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。