

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 稲垣 知希

論 文 題 目

Direct evidence of abortive lytic infection-mediated establishment of Epstein-Barr virus latency during B-cell infection

(B 細胞初感染時において Epstein-Barr ウイルスが一過性の溶解感染を経由することの直接的な証明)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

岡島 徹也 


名古屋大学教授

委員

近藤 豊 


名古屋大学教授

委員

豊岡 伸哉 

名古屋大学教授

指導教授

木村 宏 

論文審査の結果の要旨

ウイルス初感染後の個々の感染細胞の運命追跡は、ウイルスの感染成立機構を考える上で重要である。本研究では細菌人工染色体 (Bacterial artificial chromosome) 技術による組換えウイルス作成と、Flippase (Flpe) - Flpe recognition target (Flpe-FRT) システムによる部位特異的遺伝子組み換え技術を融合し、バーキットリンパ腫由来の B 細胞 (Akata 細胞) を用いて Epstein-Barr ウイルス (EBV) の初感染における個々の感染細胞の運命決定を行った。その結果、一部の EBV 感染細胞はウイルス粒子産生を伴わない不完全な溶解感染を経由して、潜伏感染に移行することが明らかになった。さらにこの初感染時の溶解感染関連遺伝子の発現は、EBV 溶解感染関連遺伝子の誘導を司るウイルス転写因子を欠損させた組換え EBV でも確認され、初感染におけるこの溶解感染への移行はウイルス産生時の溶解感染とは異なるメカニズムで制御されていることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. EBV 初感染後の宿主遺伝子発現の RNA-seq 解析から、NFκB 結合領域をプロモーターに持つ遺伝子群の有意な発現上昇を認めた。NFκB 経路は細胞増殖に関与しており、EBV 初感染後の溶解感染遺伝子発現に伴う NFκB 経路の活性化が腫瘍化に寄与している可能性が考えられる。
2. ヒト B 細胞においても Akata 細胞と同様に、初感染後に不完全な溶解感染を経由することを明らかにした。Akata 細胞と比較し、ヒト B 細胞ではより不完全な溶解感染の期間が長かった。Akata 細胞では *Myc* 遺伝子の恒常的な発現を認めるが、当該遺伝子は潜伏感染の維持に寄与することが報告されている。このような宿主因子の発現の差異が、EBV 初感染後の溶解感染の持続期間に影響していると思われる。
3. 今後は、ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を用いたスクリーニングにより、EBV 初感染後の溶解感染誘導に関連する宿主因子を予定している。CRISPR sgRNA ライブラリ処理後の細胞に対して EBV を感染させ、溶解感染が誘導され Flpe-FRT システムにより標識された細胞を FACS でソートし次世代シーケンス解析を行うことで、溶解感染の誘導に寄与する宿主候補遺伝子を探索する。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	稲垣 知希
試験担当者	主査	岡島 徹也	副査 ₁	近藤 豊
	副査 ₂	豊岡 伸哉	指導教授	木村 宏
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ウイルス初感染時の不完全な溶解感染と腫瘍化の関連について 2. ヒトのB細胞においても初感染後の不完全な溶解感染は認めるか 3. 本研究で得た知見から今後どのように研究を展開するか <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、ウイルス学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				