

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 浜 島 り な

論 文 題 目

核多角体病ウイルス感染カイコ細胞  
が誘導するRNA分解の分子機構解析

論文審査担当者

主査	池田	素子
委員	柘植	尚志
委員	吉村	徹
委員	三浦	健
委員	水口	智江可

核多角体病ウイルス(nucleopolyhedrovirus, NPV)は、バキュロウイルス科に属する大型のウイルスで、昆虫をはじめとする節足動物で特異的に増殖するウイルスである。80-180 kbpの2本鎖環状DNAをゲノムとして持ち、ゲノムには90-180個の遺伝子がコードされている。NPVは一般に宿主特異性が高く、NPVによる致死感染は当該ウイルスが分離された昆虫とそのごく近縁の昆虫に限定されている。NPVの宿主特異性の決定には、昆虫細胞が誘導する抗ウイルス応答と、これを抑制するNPVの抗ウイルス応答制御機構が関与していると考えられるが、宿主特異性の決定を担う分子機構はまだ明らかにされていない。

カイコ由来の培養細胞(BM-N細胞)は、カイコNPVに対して許容性であり、感染細胞ではウイルス遺伝子の発現、ゲノムDNAの複製、子孫ウイルスの形成が生じる。さらに、感染細胞の核内には、子孫ウイルスを包埋した多角体が形成される。一方、BM-N細胞は、*Autographa californica* MNPV(AcMNPV)を含む、多くのNPVに対して非許容性であり、これらのウイルスはBM-N細胞で増殖することができない。これまでに、非許容性のNPVの感染によって、BM-N細胞のリボソームRNA(rRNA)が急速に分解・消失することを見出した。カイコNPVを感染させたBM-N細胞のrRNA量は、感染を通じてほとんど変化しなかったことから、rRNA分解誘導の有無が、BM-N細胞におけるNPVの宿主特異性決定の主な要因になっていると考えられた。本研究は、カイコ細胞におけるNPVの宿主特異性決定機構を解明することを目的として、NPV感染によってカイコ細胞が誘導するrRNA分解の分子機構解析を行った。

第2章では、NPV感染に対する抗ウイルス応答として、rRNAの分解誘導が進化的に保存された反応であるのかどうかを検討した。まず、カイコのさまざまな組織に由来する培養細胞においてもNPV感染によってrRNA分解が誘導されることを確認し、カイコ由来の細胞で一般に誘導される反応であることを示した。さらに、カイコの祖先種であるクワコ由来の培養細胞において、非許容性のNPV感染によってrRNA分解が誘導されることを示した。一方、カイコの近縁種であるサクサン由来の培養細胞では、rRNA分解は誘導されなかった。これまでの研究で、カイコ以外のチョウ目昆虫に由来する培養細胞(ヨトウガ Sf9細胞、マイマイガ Ld652Y細胞、シロイチモジヨトウ Se301細胞、クワゴマダラヒトリ SpIm細胞)や、ショウジョウバエ S2細胞では、rRNA分解は誘導されないことが示されており、今回の結果と合わせて、非許容性のNPV感染によるrRNA分解誘導は、カイコガ科の昆虫で獲得されたユニークな抗ウイルス応答であることが示された。

第3章では、rRNA分解誘導に関与するNPVの因子の同定を行った。これまでに、rRNA分解誘導を引き起こす因子を同定するため、アメリカシロヒトリNPV(HycuMNPV)のゲノムを網羅するコスミドライブラリーを用いた解析が行われ、*p143*遺伝子(*hycup143*)が関与していることを明らかにした。*p143*遺伝子は、全てのバキュロウイルスに保存されているコア遺伝子の1つであり、DNAヘリケースドメインを持つタンパク質をコードしていて、ウイルスDNA複製に必須の遺伝子である。そこで、カイコ細胞において非許容性のNPVの*p143*遺伝子がrRNA分解誘導に関与しているかどうかを調査した結果、用いた全ての非許容性のNPVの*p143*遺伝子により誘

導されることを明らかにした。

第4章では、rRNA分解誘導をもたらす*p143*遺伝子産物(P143)のドメイン解析を、AcMNPV P143(AcP143)を用いておこなった。AcP143は、1221個のアミノ酸残基からなる分子量約143kのタンパク質であり、カイコNPVのP143(BmP143)とは96%の相同性を示す。さらに、AcP143の一部の領域(ScH領域)を、カイコNPVの相同な領域と置換したP143をもつ組換えAcMNPVは、カイコ細胞で増殖可能になることから、ScH領域は宿主特異性決定に関わることが明らかにされている。そこで、AcP143のrRNA分解誘導に関わるドメインをBmP143の相当するアミノ酸残基と置換することによって探索した結果、DNAヘリケースドメインは関与せず、ScH領域に含まれる6アミノ酸残基が関与していることを明らかにした。カイコ細胞は、この6アミノ酸残基を認識することにより、rRNA分解を誘導し、NPVの増殖を抑制していることが明らかとなった。

第5章では、rRNA分解誘導をもたらすシグナル伝達機構を明らかにするために、NPVを感染させたカイコ細胞を用いて、RNA-seq法によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、カイコNPV感染細胞と比較して、AcMNPV感染細胞において発現が有意に増加している遺伝子を見出すことはできなかった。一方、AcMNPV感染細胞において、細胞遺伝子の発現レベルが著しく減少することがわかった。この細胞遺伝子の発現レベルの減少が、rRNA分解誘導の要因の1つである可能性を示した。

以上のように本論文は、NPV感染カイコ細胞の抗ウイルス応答としてrRNA分解の誘導機構を明らかにしたものである。rRNA分解や全タンパク質合成停止は、脊椎動物の自然免疫の中で、ウイルス感染に対する生体防御機構として認められている。したがって、本研究の成果は、脊椎動物と無脊椎動物における抗ウイルス応答の共通性と特異性の理解を深め、脊椎動物を用いた研究だけでは得られない、自然免疫の新たな仕組みの発見につながることを期待される。学位審査委員会は、本論文が博士(農学)の学位を授与するに十分な価値を有するものと認め、博士論文として合格と判定した。