



Title	Genetic regions affecting the replication and pathogenicity of dengue virus type 2
Author(s)	實宗, 由浩
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101843
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	實宗 由浩
論文題名 Title	Genetic regions affecting the replication and pathogenicity of dengue virus type 2 (デングウイルス2型の複製と病原性に影響を与える遺伝子領域について)
論文内容の要旨	
〔目 的(Objective)〕 デングウイルス (DENV) は100か国以上で流行している蚊媒介性感染症であるデング熱の原因となるウイルスである。また、DENVは4種の血清型 (DENV1、2、3、4) が存在し、血清型毎に数種類の遺伝子型を有することが知られている。 デング熱の流行地の一つであるタイでは、これらすべての血清型が共存している。2016-17年にタイで分離されたDENV2の塩基配列を解析したところ、新たにCosmopolitan遺伝子型が出現し、既存のAsian-I遺伝子型と共に流行していることが明らかとなった。これら2つの遺伝子型の臨床分離株を3株ずつ検討したところ、遺伝子型特異的に感染力価に大きな差があり、形成されるFocusの大きさも異なっていた。 そこで本研究では、2つの遺伝子型間のウイルスの性質の差に着目し、これらのウイルスの機能に影響を与える遺伝子領域の同定を目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 はじめにウイルスの性質に関わる遺伝子領域を特定するため、Circular polymerase extension reaction (CPER) 法を用いて、Asian-I型とCosmopolitan型の遺伝子配列を基に組換えデングウイルスを32種類作製した。作製したウイルスに対してFocus Forming Assay法を用いた感染価とフォーカスサイズの比較を行い、感染力と増殖能力に関わる遺伝子領域の特定を試みた。その結果、構造タンパク領域とNS1～NS2B領域がフォーカスサイズと感染力価に影響することが示唆された。構造タンパク領域がウイルスの細胞侵入に関与し、NS1～NS2B領域がウイルスゲノムの増幅に関与するのではないかと考え、それぞれを個別にレポーターアッセイを用いて解析することとした。一回感染性粒子 (SRIP) を用いたレポーターアッセイにより構造タンパク質の機能解析を行ったところ、Cosmopolitan型のprMとEnvelope (E) 領域を含むSRIPは有意に高い活性を示した。しかし、prMとE領域の遺伝子型が異なると感染力が顕著に低下した。この結果から、prMとEにウイルスの感染力に大きな影響を及ぼす領域があることが示唆された。また、レプリコンを用いたレポーターアッセイでCosmopolitan型のNS1～NS2B領域によりレポーター遺伝子の発現量の増加がみられたことからNS1～NS2B領域がゲノムの増幅能力に寄与することが分かった。 ここまでの結果から、構造タンパク質のprM、E領域と非構造タンパク質のNS1、NS2A、NS2B領域がウイルスの性質に関わることを示された。そこで、上記を組み換えた8種類の組換えウイルスをIFN α / β / γ レセプターノックアウトマウスに接種し、生体内でのウイルスの病原性を観察した。その結果、Cosmopolitan型構造タンパクおよびNS1-NS2Bタンパクを持つウイルスの血中力価が高く、より重篤な病態を引き起こした。	
〔総 括(Conclusion)〕 本研究では、これらのウイルスのin vitroおよびin vivoでの特性を複数の組換えウイルスを用いて解析し、どのウイルス遺伝子領域がこれらの違いの原因となっているのかを明らかにした。その結果、ウイルスの感染性、複製性、病原性に影響を及ぼす構造タンパク質とNS1-NS2Bタンパク質をコードする遺伝子領域を同定した。本研究は、新型DENVの伝播とDENVタンパク質間の相互作用に関する新たな知見を提供するものである。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 廣 宗、 由 浩			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	塩 田 亨 行 署 名
	副 査	大阪大学教授	小 林 剛 署 名
	副 査	大阪大学教授	渡 辺 登 喜 子 署 名

論文審査の結果の要旨

デングウイルス (DENV) は100か国以上で流行している蚊媒介性感染症であるデング熱の原因となるウイルスである。また、DENVはフラビウイルス科フラビウイルス属に属しており、DENV1～4の4種の血清型が存在し、血清型毎に数種類の遺伝子型を有することが知られている。

デング熱の流行地の一つであるタイでは、これらすべての血清型が共存している。2016-17年にタイで分離されたDENV2の塩基配列を解析したところ、新たにCosmopolitan遺伝子型が出現し、既存のAsian-I遺伝子型と共に循環していることが明らかとなった。これら2つの遺伝子型の臨床分離株を3株ずつ検討したところ、遺伝子型特異的に感染力価に大きな差があり、形成されるFocusの大きさも異なっていた。

本研究では、in vitroおよびin vivoでの特性を複数の組換えウイルスを用いて解析し、どのウイルス遺伝子がこれらの特性の違いの原因となっているのかを明らかにした。その結果、ウイルスの感染性、複製性及び病原性が構造タンパク質とNS1～NS2Bタンパク質をコードする遺伝子領域が関与することが示唆された。

本研究は博士 (医学) の学位授与に値する。