



Title	Reovirusによる脱線維化効果とそのメカニズム解明
Author(s)	石神, 育歩
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105574
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

氏 名 (石 神 育 歩)	
論文題名	Reovirusによる脱線維化効果とそのメカニズム解明
一般にウイルス感染やそれに続く生体応答は、インフルエンザウイルスによる発熱や肝炎ウイルスによる肝硬変に代表されるように、疾患の誘発・進展に寄与すると考えられてきた。一方で、ウイルス感染に伴う免疫応答が腫瘍の退縮を導いたように、ウイルスが体内に侵入することによる生体応答が必ずしも疾患の誘導のみに働くわけではなく、生体機能や疾患の改善に寄与する可能性も示されている。すなわち、ウイルス感染後の宿主応答は生体損傷からの回復や恒常性の維持にも寄与しうのではないかと考えられる。実際に近年、ウイルスは抗がん剤として、もしくはワクチンベクターとして臨床において用いられている。しかし、多くのウイルスは粘膜面を主な感染部位としており、医療で用いられるように体内に一度に大量のウイルスが侵入する状況は、従来の自然感染とは大きく異なっている。つまり、医薬品としてウイルスを投与する場合には従来のウイルス感染では観察されないような生体応答が引き起こされる可能性がある。では、ウイルス感染に伴う応答のうち、どのような反応が病態の悪化に寄与し、どのような反応が組織の修復や防御機構として働くのか。この問いをウイルス側と宿主側の双方から明らかにすることは新たな疾患制御への可能性を拓くと期待される。そこで私は、特に静脈内投与時におけるウイルス感染およびそれに対する宿主応答が生体機能や疾患に及ぼす影響を解析するために、非病原性ウイルスであり、10本の2本鎖RNAをゲノムに持つReovirus (Mammalian orthoreovirus type 3 dearing)に着目した。Reovirusは広い宿主域をもち、ヒトにも感染するが、そのほとんどは不顕性感染である。また野生型のウイルスが腫瘍細胞特異的に増殖し細胞死を誘導するという腫瘍溶解性を有することから、抗がん剤として主に静脈内投与による臨床試験が進められているが、これまでに重大な副作用は報告されていない。 本論文では、まずReovirusを静脈内投与後、投与量の約90%が分布する肝臓に注目し、ウイルスと宿主細胞の相互作用が肝線維症に及ぼす影響について、ヒト肝星細胞株や各種肝線維化マウスを用いて検討した。肝線維症とは肝炎ウイルスの感染や、アルコールの多量摂取、代謝異常などにより炎症状態が持続した結果、肝臓の間葉系細胞である肝星細胞が活性化され、コラーゲンなどの細胞外基質を過剰に産生・蓄積し、肝機能不全、さらには肝硬変や肝がんへと進展する疾患である。本論文では、まずReovirusがマウスに静脈内投与後、肝星細胞に取りこまれていることを明らかにした。さらに、Reovirusは肝星細胞に取り込まれたのち、顕著な細胞死を誘導することなく線維化病態時に発現が上昇するI型コラーゲンやフィブロネクチンなどの遺伝子発現を低下させることを明らかにした。また、Reovirusは四塩化炭素誘導性や胆管結紮誘導性の肝線維化マウスにおいても肝臓の線維化マーカー遺伝子の発現を低下させ、肝組織におけるコラーゲンの沈着についても約1/3程度にまで減少させた。さらに、そのメカニズムとして、Reovirusの2本鎖RNAゲノムが重要であり、Transforming Growth Factor (TGF)-β経路下流のSmad2/3の翻訳を抑制することで脱線維化効果を示していることが示唆された。TGF-β経路は細胞の遊走や細胞周期、アポトーシスの制御を介してウイルスの生存もしくは排除に寄与していることが報告されている。そこで次に、TGF-β経路の抑制がReovirusの生存およびReovirusによる殺細胞効果にどのように寄与しているのかについて検討を行った。その結果、TGF-β経路の阻害自体はReovirusの増殖や細胞死の誘導に影響を及ぼさないが、TGF-βの阻害剤であるSB431542はオフターゲット的に肝がん細胞株に対するReovirusの殺細胞効果を減弱させることを明らかにした。さらに、前述の肝線維症に対する検討において、Reovirusは肝臓や腎臓において顕著な障害を誘導しないだけでなく、むしろ肝組織においてはアポトーシスが減少傾向にあり、腎組織においては片側尿管結紮による腎線維化マウスにおいて腎障害レベルの有意な低下が観察された。ここで、インフルエンザウイルスなどいくつかのウイルスはProstaglandin E2 (PGE2)の産生を介してアポトーシスの抑制や肝細胞壊死領域の減少など組織保護効果を示すことが報告されている。そこで、Reovirus作用によりPGE2の産生が誘導されるのではないかと、そして産生されたPGE2がReovirusによる細胞死誘導に影響を与えるのではないかと考え検討を行った。その結果、PGE2はReovirusによる細胞死の誘導に直接的な変化は与えなかった。一方でがん細胞の中でもReovirus作用によりPGE2を産生しやすい細胞と産生しにくい細胞が存在し、PGE2を産生しやすい細胞では、Reovirus作用により生体にて免疫	

抑制作用を示す濃度である10 nMと同程度もしくはそれ以上のPGE2が産生誘導されていた。また、ReovirusがPGE2を産生するメカニズムとしてはCyclooxygenase (COX)-2やNF- κ B経路が関与していることが明らかとなった。

以上のように、Reovirusは線維化の改善、抗腫瘍効果それぞれにおいて宿主細胞と多層的に相互作用することによって、疾患の改善に寄与することが明らかとなった。特に肝線維症の改善に対しては「慢性感染しない」「2本鎖RNAゲノムを有す」「筋線維芽細胞特異的に細胞内に取り込まれる」という特徴が重要であることを明らかにした。今後、さらにそれぞれの相互作用に寄与する要素を抽出し最適化することで、新たな線維症、がんの治療薬の創出に寄与することが期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (石 神 育 歩)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 水口 裕之
	副 査	教 授 橋本 均
	副 査	教 授 岡田 欣晃

論文審査の結果の要旨

ウイルスやそれに続く生体応答は一般に疾患の誘発・進展に寄与すると考えられてきた。一方で、ウイルス感染に伴う免疫応答が腫瘍の退縮を導いたように、ウイルスが体内に侵入することに依る生体応答が必ずしも疾患の誘導にのみ働くわけではなく、生体機能や疾患の改善に寄与する可能性も示されている。特に、医療で用いられるような体内に一度に大量のウイルスが侵入する状況は、従来の自然感染とは大きく異なる生体応答を示す可能性が考えられる。そこで、ウイルス感染に伴う応答のうち、どのような反応が病態の悪化に寄与し、どのような反応が組織の修復や防御機構として働くのかをウイルス側、宿主側の双方から明らかにすることは新たな疾患制御への可能性を拓くと期待される。

そこで、特にウイルスを静脈内投与した際に生体や疾患に与える影響を解析するために、非病原性ウイルスであり、10本の2本鎖RNAをゲノムにもつReovirus (Mammalian orthoreovirus type 3 dearing) に着目した。Reovirusは広い宿主域を持ち、ヒトにも感染するが、そのほとんどは不顕性感染である。また野生型のウイルスが腫瘍細胞特異的に増殖し細胞死を誘導することから抗がん剤として、静脈内投与による臨床試験が進められている。本研究では、まず、Reovirusを静脈内投与後、投与量の約90%が分布する肝臓の線維症に注目して検討を行い、下記の結果を得た。

1. Reovirusはマウスに静脈内投与後、肝星細胞に取り込まれ、脱線維化効果を示した。
Reovirusの2本鎖RNAが生体に認識され、TGF- β 経路下流の転写因子であるSmad2/3の翻訳が抑制されることが脱線維化効果のメカニズムの1つとして示された。
2. TGF-b経路の阻害はReovirusの殺細胞効果に影響を及ぼさないが、TGF-b経路の阻害剤であるSB431542はオフターゲット的に肝がん細胞におけるReovirusの殺細胞効果を減弱した。
3. Reovirus作用により、一部のがん細胞ではProstaglandin E2が産生された。
これは直接的にはReovirusの殺細胞効果に影響を及ぼさないが、免疫抑制を引き起こすのに十分な産生量であった。

本研究では、Reovirusと生体との相互作用を検討し、Reovirusが生体のRNA認識機構やTGF- β 経路を介して肝臓や腎臓などの組織線維症を改善することを明らかにしたほか、Reovirusの抗腫瘍効果についても基礎研究・臨床の両面において意義のある結果を示した。本論文は博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。