

Title	Downregulation of an Astrocyte-Derived Inflammatory Protein, S100B, Reduces Vascular Inflammatory Responses in Brains Persistently Infected with Borna Disease Virus
Author(s)	Ohtaki, Naohiro
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/2221">http://hdl.handle.net/11094/2221</a>
DOI	
rights	Copyright © American Society for Microbiology
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	おお 大 たき 滝 なお 尚 ひろ 広
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 4 7 5 号
学位授与年月日	平成 19 年 5 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Downregulation of an Astrocyte-Derived Inflammatory Protein, S100B, Reduces Vascular Inflammatory Responses in Brains Persistently Infected with Borna Disease Virus (ボルナ病ウイルス脳内持続感染によるアストロサイト由来炎症増幅タンパク質 S100B 発現低下を介した血管炎症反応の抑制機序の解明)
論文審査委員	(主査) 教授 生田 和良  (副査) 教授 松浦 善治 教授 塩田 達雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [ 目 的 ]

ウイルス持続感染とは宿主による病原体の排除が起こらない一方で、ウイルスが効率よく産生される感染形態を示す。原因としてウイルスによる免疫応答の回避・抑制作用ないし宿主応答の抑制性制御に因るものが挙げられているが、その詳細は未だ議論の中にある。また、持続感染は各種慢性疾患の要因として挙がっており、難治性疾患に対する新たな治療法開発のためにも、持続感染の病態および成立機序に対する理解を進めることは有効であると考えられる。

ボルナ病ウイルス (BDV) は中枢神経系に長期にわたる持続感染を起こし、慢性的な精神・神経疾患との関連が示唆されている RNA ウイルスである。BDV 持続感染成立に関して脳内ウイルス抗原に対するリンパ球不応答がみられることが報告されているが、その詳細については明らかではない。一方、アストロサイトはグリア細胞の一種であり、炎症反応を促進することで脳内免疫応答に重要な役割を果たすことが知られている。今回私達は、BDV 持続感染ラット脳内におけるアストロサイト由来炎症増幅分子 S100B の発現動態について解析し、持続感染成立に係わるアストロサイトの役割について検討を行った。

#### [ 方法ならびに成績 ]

新生仔ないし 4 週齢 Lewis ラットへ BDV を脳内接種し、5 週後に脳組織の採材を行った。ミクログリアおよびアストロサイトをそれぞれのマーカー分子である ED-1 および GFAP に対する免疫組織染色法で観察し、炎症関連分子発現を RT-PCR 法、ELISA 法で解析した。その結果、BDV 持続感染脳内では著明な炎症応答が確認された。さらに、アストロサイトの動態について、S100B と GFAP の発現量を指標にウェスタンブロット法で比較した。その結果、BDV 持続感染脳内では GFAP の顕著な発現上昇にもかかわらず、S100B の発現が有意に低下していることが示された。S100B の発現低下は大脳新皮質と小脳で確認され、海馬領域では確認できなかった。

次に、BDV 持続感染脳内における S100B に関連したアストロサイト機能を検討するため、以下の解析を行った。

### (1) LPS 投与による脳内 S100B および関連分子の誘導

BDV 感染 5 週後の新生仔ラットに LPS 腹腔内投与を行なった。その結果、BDV 感染・非感染ラット共に脳内での炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の発現上昇が確認されたが、BDV 持続感染ラットでは S100B、およびその受容体分子 RAGE のいずれの発現誘導も認められなかった。また、BDV 持続感染ラットでは LPS 投与による GFAP 染色性の上昇が観察されず、TUNEL 陽性のアポトーシス細胞が数多く確認された。これらの観察より、BDV 持続感染脳内では S100B 発現誘導が抑制され、アストロサイトの増殖および神経保護機能が減退していると考えられた。

### (2) BDV 持続感染ラットへの自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) 誘導

ミエリン塩基性タンパク質 (MBP) の皮下投与により BDV 感染 7 週目のラットに EAE を誘導した。BDV 持続感染ラットでは MBP 免疫による S100B、RAGE 発現誘導は起こらず、EAE による神経症状の遅延ないし緩和がみられた。さらに、組織解析の結果、MBP 免疫 BDV 持続感染ラットでは炎症反応による脳血管拡張が観察されず、血管内皮細胞におけるリンパ球接着分子 VCAM-1 の免疫染色性上昇も減少していた。以上の結果から、BDV 持続感染による S100B-RAGE 発現低下に伴い、血管炎症反応の抑制が起こることが示唆された。

### (3) BDV 抗原特異的免疫応答への S100B-RAGE 相互作用阻害

組換え BDV N タンパク質を生後 3 週目の新生仔感染ラットへ免疫し、脳炎反応の誘導を行った。同時に、RAGE-Fc タンパク質を 2 日おきに腹腔内投与し、S100B-RAGE の結合を特異的に阻害した。その結果、RAGE-Fc 投与ラットでは脳内での血管拡張および VCAM-1 の発現が顕著に抑制され、RAGE を介した S100B シグナルが血管炎症応答の形成に関与することが示された。

## [ 総 括 ]

BDV 持続感染脳内ではアストロサイト由来タンパク質 S100B の発現低下と活性化抑制が認められ、S100B の機能を介した神経保護作用と血管炎症反応が減弱していた。また、RAGE を介した S100B シグナルの阻害が、ウイルスタンパク質に対する血管炎症反応の進行を抑制した。本研究により、BDV 持続感染脳内では S100B の発現制御を介したアストロサイトの機能異常が起こっている可能性が示された。

今回得られた研究成果は、BDV 持続感染の成立にはアストロサイト由来の炎症関連因子の発現抑制により、局所的な炎症反応の進行が抑えられていることが必要である可能性を示したものである。今後、持続感染を起こす他の神経ウイルスについても検討する必要があると考えられる。近年、精神・神経疾患発症に伴い S100B 発現動態が変動することが明らかとなっており、S100B の発現異常を示した今回の成果は BDV の精神・神経疾患への関与を明らかにする上でも参考になるとと思われる。

## 論文審査の結果の要旨

大滝尚広氏はボルナ病ウイルス (BDV) の中枢神経系へ持続感染形成におけるアストロサイトの関与について研究を行い、ラットへの BDV 接種実験により BDV 感染脳内でアストロサイト由来炎症性タンパク質 S100B の発現が低下していることを発見した。また S100B 発現低下に伴い、BDV 持続感染脳内ではレセプターである RAGE を介した炎症反応時のアストロサイト増殖や、血管内皮細胞における炎症応答の低下が起こっていることを示した。さらに S100B 応答が BDV 抗原に対する脳内免疫応答にも関与することを明らかにし、S100B 発現低下を介したアストロサイト機能低下が BDV 持続感染維持に働いている可能性を提示した。

氏の研究成果は BDV 持続感染の形成機序および慢性神経疾患におけるアストロサイトの関与について新たな知見を与えるものであり、学位に値すると考えられる。