



Title	Persistent Borna Disease Virus Infection Confers Instability of HSP70 mRNA in Glial Cells during Heat Stress
Author(s)	山下, 真紀子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45442
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏名	山下 真紀子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19305 号
学位授与年月日	平成17年3月25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	Persistent Borna Disease Virus Infection Confers Instability of HSP70 mRNA in Glial Cells during Heat Stress (BDV 持続感染は熱ストレス下において HSP70 mRNA の不安定化を引き起こす)
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〕

ボルナ病ウイルス(BDV)は、マイナス鎖の一本鎖RNAゲノムを持つ神経親和性のウイルスで、非常に幅広い動物種に感染し、中枢神経系に持続感染を起こす。ウマやネコでは運動障害や行動異常などの神経症状を引き起こすことが知られている。また、これまでの疫学調査より、BDVがヒトにも感染していることが明らかとなっており、精神分裂病などの原因不明の精神・神経疾患との関連性が示唆されている。しかし、BDVの中枢神経病原性の機序については依然明らかになっていない。

BDVは、その感染により細胞を障害することなく、容易に持続感染を引き起こす。しかし、BDVを感染させた実験動物、特に新生仔ラットでは、脳の低形成、特に小脳、海馬付近における神経細胞数の顕著な減少が認められる。また、自発運動の低下ならびに行動異常などの症状も観察されている。これらの異常は神経細胞の直接的な破壊を伴わない細胞の機能障害により起こるものと考えられている。また、無症状なBDV持続感染ラットにストレスを負荷したところ、BDV持続感染ラットのみが神経症状を誘発し、中脳における神経細胞死が観察されている。

そこで、本研究では、BDV持続感染細胞におけるストレス応答能力について検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

まず、BDV持続感染によるストレス応答を検討するために、BDV持続感染細胞における熱ショック蛋白質(Heat Shock Protein: HSP)の発現について、非感染細胞との比較を行った。HSPは、熱ショック以外にもウイルス感染を含む様々なストレスにより、その発現が誘導される蛋白質で、ストレス蛋白質とも呼ばれている。通常の培養条件下において、BDV持続感染細胞の増殖率、形態およびHSPの発現に、非感染細胞との違いは認められなかった。

次に、ストレス負荷時におけるHSPの発現誘導について検討を行った。非感染およびBDV持続感染細胞に、熱ショック、酸化ストレスなどの各種ストレスを負荷した。その後、復帰培養を行い経時に各細胞を回収し、HSPの発現の動態について、ウェスタンプロット法による解析を行った。その結果、BDV持続感染細胞ではストレス負荷によるHSP70の発現の誘導に遅延が認められ、その発現量に低下が認められた。また、HSP70の誘導能が低下してい

る BDV 持続感染細胞では、ストレスによる細胞の円形化と培養プレートからの剥離が観察された。HSP70 はストレス下において、細胞骨格系の安定化に重要な役割を担うことが知られていることから、ストレス下における細胞の形態について検討を行ったところ、BDV 持続感染細胞では、ストレスによる細胞骨格・接着斑の早急な破壊が認められた。さらに、ラット脳より調製した BDV 感染初代培養グリア細胞においても、BDV 持続感染細胞同様、HSP70 誘導の遅延および発現量の低下ならびに細胞形態の維持能力の低下が認められた。

ストレスにより誘導される HSP70 蛋白質の発現に遅延および低下が認められたことから、RT-PCR 法による HSP70 mRNA 量の検討を行った。熱ショック後、非感染細胞および BDV 持続感染細胞の両細胞において、HSP70 mRNA の急速な増加が認められた。しかし、BDV 持続感染細胞ではその後、HSP70 mRNA が消失した。そこで、BDV 持続感染細胞における HSP70 mRNA の安定性について、ノーザンプロット法による検討を行った。その結果、BDV 持続感染細胞における HSP70 mRNA の半減期は、非感染細胞の半分以下に短縮していることが明らかとなつた。最近の報告より、抗ウイルス蛋白質である PKR (double-stranded RNA-dependent protein kinase) が、HSP70 mRNA の安定化に重要であることが知られている。そこで、PKR の発現量について検討を行ったところ、BDV 持続感染細胞において恒常的な PKR の活性化が認められた。

[総括]

BDV は細胞障害性を伴うことなく、容易に持続感染を成立させる。しかし、今回の結果から、BDV 持続感染細胞においてもストレス誘導性の細胞障害が観察され、それは、BDV 感染によるストレス応答能力の低下によるものと考えられる。HSP70 は、ストレス下における神経細胞の保護、シナプス活性の保護、抗アポトーシス作用などの機能を持つ。また、脳の発達にも重要な役割を果たしており、BDV の持続感染による HSP70 誘導発現の低下が、BDV の中枢神経病態に関与している可能性が示唆される。

論文審査の結果の要旨

ボルナ病ウイルス (BDV) は、広範囲な感染宿主域を持つ神経親和性の RNA ウィルスで、モデル動物への脳内感染により行動異常や運動器障害などの神経症状を引き起す。疫学調査の結果より、BDV 感染と精神疾患との関連性が示唆されているものの、BDV の中枢神経病原性の機序については依然明らかになっていない。BDV は非細胞傷害性に持続感染を成立することが特徴であるが、本研究では BDV の中枢神経病原性の解明を目的とし、BDV 持続感染が細胞のストレス応答能に与える影響に注目し検討を行っている。

その結果、BDV 持続感染細胞において、熱ショック蛋白質 (HSP) 70 の発現誘導の遅延および低下に伴う、ストレス誘導性の細胞障害が認められ、それは細胞骨格・接着維持能力の低下に因るものであるということが明らかとなつた。さらに、BDV 持続感染細胞では HSP70 mRNA の半減期の短縮が認められた。

山下真紀子君の研究内容は、非細胞傷害性と認識されていた BDV 感染における細胞機能の障害について証明したものである。また、その原因と考えられる HSP70 蛋白質の発現の低下が、BDV の中枢神経病態に関与する可能性を示唆するものであり、学位の授与に値すると考えられる。