



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45442">https://hdl.handle.net/11094/45442</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> 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的に各細胞を回収し、HSP の発現の動態について、ウェスタンブ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、ノーザンブ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上に短縮していることが明らかとなった。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の中樞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ウイルスで、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こす。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の中樞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の中樞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、熱ストレスによる熱ショック蛋白質 (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った。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の中樞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。