



Title	Cell-binding properties of the envelope proteins of porcine endogenous retroviruses.
Author(s)	渡辺, 理恵
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45466
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	渡 辺 理 恵
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19309 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	Cell-binding properties of the envelope proteins of porcine endogenous retroviruses. (ブタ内在性レトロウイルスエンベロップ蛋白質の細胞結合特性)
論文審査委員	(主査) 教授 松浦 善治 (副査) 教授 生田 和良 教授 塩田 達雄

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

近年ブタからヒト、あるいは伴侶動物への異種間臓器移植の研究が国内外で進められている。しかしながら、ブタのゲノム内にはブタ内在性レトロウイルス (Porcine Endogenous Retrovirus : PERV) が存在しており、移植によって新たな種特異性を獲得したレトロウイルスの出現が懸念されている。そのため、異種間臓器移植の実用化には、PERVの安全性を評価できる試験法や感染の制御法の確立が必須である。本研究では、可溶性 PERV エンベロップ蛋白質の各種細胞への結合と PERV 感染の中和活性を検証し、PERV の感染機構の解析を目的とした。

【方法ならびに成績】

1. 可溶性 PERV エンベロップ蛋白質の作製

二つのサブタイプ PERV-A および PERV-B のエンベロップ蛋白質 (Env) の、レセプター結合領域 (RBD) と推定される N 末端側 1/3 (Env-ST) と表面領域全長 (Env-SU) を、哺乳動物細胞、ならびに昆虫細胞で可溶性蛋白質として発現させた。哺乳動物細胞では Env-SU は細胞外へ放出されなかったが、昆虫細胞では Env-ST と Env-SU ともに効率よく放出された。

2. 可溶性 Env を用いた結合試験

2.1. PERV に対する感受性の異なる細胞に対する可溶性 Env の結合

PERV 感受性細胞 HEK293 (ヒト胎児腎) と非感受性細胞 MOLT-4 (ヒト T リンパ芽球) を用いて、可溶性 Env の結合試験を行った。その結果、Env-SU は両サブタイプとも HEK293 に対してのみ、有意な結合活性を示した。一方、PERV-A の Env-ST では結合能は見られず、PERV-B の Env-ST は非感受性細胞である MOLT-4 に結合活性を示した。

2.2. 可溶性 Env の細胞表面受容体への結合

Env-SU の結合が細胞表面の PERV 受容体に依存することを確認するため、HEK293、および PERV の持続感染

によって受容体発現レベルの下がった HEK293 を用いて結合試験を行った。その結果、持続感染細胞では、同じサブタイプ由来の Env-SU の結合が阻害される傾向が認められた。

2.3. 各種哺乳動物細胞に対する可溶性 Env の結合試験

PERV に対し様々な感受性を示す各種哺乳動物細胞を用いて、可溶性 Env の結合試験を行った。PERV-B Env-SU の結合活性と PRRV-B の感受性には有意な相関性が認められた。また、PERV-A Env-SU もミンクの Mv1-Lu 以外の PERV-A 感受性細胞に結合活性を示した。一方、両サブタイプの Env-ST の結合とウイルスの感受性との間には相関は見られなかった。

3. 可溶性 Env を用いた感染中和試験

各サブタイプの Env-SU を精製し、HEK293 と Mv1-Lu を用いて、PERV シュードタイプウイルスの中和試験を行った。HEK293 では PERV Env-SU によって、シュードタイプウイルスの感染が一部中和されたが、Mv1-Lu では高濃度の PERV Env-SU によっても全く中和が認められなかった。

【総括】

1. PERV エンベロープの受容体結合領域の folding には Env 全長が必要である

Env-ST と Env-SU の各種哺乳動物細胞に対する結合試験の成績から、PERV エンベロープ蛋白質の受容体結合領域が機能を発揮するためには、全長の Env の発現が必要であることが示唆された。この性質は高病原性マウス白血病ウイルス (MLV-P) と共通の性質である。

2. PERV Env-SU は細胞表面の PERV 受容体に結合する

PERV 持続感染細胞に対する結合試験の成績から、PERV Env-SU の細胞表面への結合は受容体に依存していることが示唆された。

3. PERV は Mv1-Lu において受容体非依存的な侵入経路を持つ

Mv1-Lu における PERV-A Env-SU の結合試験の成績と、高濃度の Env-SU でもシュードタイプウイルスの Mv1-Lu への感染を中和できなかったことから、PERV は受容体非依存的に Mv1-Lu に侵入している可能性が示唆された。これは MLV-P ならびに高病原性ネコ白血病ウイルスと共通の性質である。

本研究により、PERV はガンマレトロウイルスの中でも、高病原性を示すウイルスに共通する性質を有することが示された。今後、さらなる性状の解析が必要であると思われる。

論文審査の結果の要旨

本論文ではブタ内在性レトロウイルス (PERV) のが感染する際のウイルスエンベロープと受容体の結合の重要性について検討を行った。PERV は異種間臓器移植の実用化を目指す上で大きな障害となっており、その感染メカニズムの一端を解析することは社会的に意義のあることだと思われる。

可溶性エンベロープ蛋白質を作製し、エンベロープと受容体の相互作用を解析できる結合試験系を確立した。シュードタイプウイルス感染試験とエンベロープ蛋白質の結合試験を様々な動物種細胞に対して行った結果、ほとんど全ての動物種由来の細胞で両試験の結果は一致した。このことから PERV の感染成立のためにはエンベロープと受容体の結合というイベントが必須であることが示された。その一方でミンク由来の細胞ではエンベロープが結合しなくてもウイルスが感染可能であるという現象が確認された。

渡辺理恵さんの研究内容は未だ未解明である PERV の感染メカニズムを解明していく上で重要な現象を数多く見出し、学位の授与に値すると考えられる。