

Title	Role of zinc-finger antiviral protein in host defense against Sindbis virus
Author(s)	児崎, 達哉
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/53897">https://hdl.handle.net/11094/53897</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	児崎 達哉
論文題名 Title	Role of zinc-finger antiviral protein in host defense against Sindbis virus (Sindbis ウイルスに対する生体防御応答におけるzinc-finger antiviral proteinの役割)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>自然免疫応答はパターン認識受容体を介して病原体の侵入を感知し、生体防御応答を行う。細胞質に侵入したウイルスのdsRNAはRIG-I like receptor (RLR)であるRIG-IやMDA-5が認識し、IFN産生経路を活性化することにより抗ウイルス応答を行うことがよく知られている。しかしながら、RLR以外にも抗ウイルス応答を引き起こす因子が存在しており、その一つが、zinc-finger antiviral protein (ZAP)である。ZAPは過剰発現系における抗ウイルス効果について数多くの報告があるが、内在性及び生体内でのZAPの抗ウイルス応答についての報告は少ない。本研究ではZAP欠損マウスを使用し、内在性および生体内でのZAPの役割について検討した。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>野生型及びZAP欠損型マウス繊維芽細胞(MEF)にSindbis virus (SINV)やVesicular stomatitis virus (VSV)を感染させ、Immunoblot法、ウイルス力価の測定を行った。ZAP欠損型MEFでは野生型と比べ、SINVの複製の亢進が確認できた。野生型及びZAP欠損型マウス由来の細胞にRLRやToll-like receptor (TLR)のリガンドで刺激し、IFN及びIFN誘導性タンパク質であるCXCL-10の産生量をELISA法で計測した。野生型とZAP欠損型の間でIFN-<math>\alpha</math>、IFN-<math>\beta</math>及びCXCL-10の産生量に差は見られなかった。一方で、SINV感染の際にはZAP欠損細胞においてIFN-<math>\beta</math>及びCXCL-10の産生量の増加が確認できた。ZAPを安定発現した細胞にSINV RNAをtransfectionし、共免疫沈降法後にZAPと結合したSINV RNAの量を定量的RT-PCRによって確認した。ZAPの安定発現細胞においてSINV RNAの量が増加していた。さらに、ZAPとSINV RNAを共transfectionしSINV RNAをNorthern blot法によって確認した。ZAP発現細胞においてSINV RNA量が減少していた。ZAPはCCCH型のzinc-finger領域を発現している細胞においてSINVの複製を抑制した。さらに、RLRやIRF3/7の欠損細胞にZAPを安定発現させ、SINVを感染させた。RLRやIRF3/7の欠損細胞は野生型に比べSINVの複製が亢進していた。しかしながら、ZAPを安定発現させた細胞においてはRLRやIRF3/7欠損細胞及び野生型の細胞ではSINVの複製を抑制していた。生後10日目の野生型及びZAP欠損型マウスに皮下注射によってSINVを感染させ、生存率を確認した。ZAP欠損マウスは野生型と比べ、より早い致死性と高い致死率を示した。SINV感染後のマウスの脳を回収し、ウイルス力価及びサイトカイン量を定量的RT-PCR法で確認した。ZAP欠損マウスにおいてSINVの複製の亢進及びIfnb、Cxcl-10、Il-6、Il-1bのmRNAの上昇が確認できた。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>本研究によりZAPはSINV RNAと結合し、RNA量を減少させる事によってSINVの複製を制御しており、その活性にはCCCH型のzinc-finger領域が必要であることが分かった。さらに、内在性及び生体内のZAPが抗SINV応答に必須であることが明らかとなった。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 児崎 達哉	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 審良静男
	副 査 大阪大学教授 山本雅裕
	副 査 大阪大学教授 埜田達彦
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>自然免疫機構は体内に侵入した病原体を認識し、生体防御応答を誘導する。I型インターフェロン(IFN)及びI型IFN誘導性遺伝子は抗ウイルス応答に重要な役割を果たすことが知られているが、IFN誘導性のエフェクター分子については不明な点が多い。</p> <p>児崎達哉氏は、IFN誘導性遺伝子の一つであるzinc-finger antiviral protein (ZAP)がシンドビスウイルス(SINV)の複製を制御する機序について解析を行ってきた。主な発見は次のとおりである。①ZAP欠損によってSINVの複製が亢進する。②ZAPは核酸のパターン認識受容体によって誘導される1型IFN産生経路には関与していない。③ZAPはzinc-finger領域を介してSINVの複製を抑制する。④ZAPはSINVのRNAと結合し、SINVのRNA量を減少させる。⑤ZAPは1型IFN誘導性の抗SINV応答に必要である。⑥ZAPは生体内においても抗SINV応答に必須である。</p> <p>これらの発見はI型IFNに誘導されるエフェクター分子の同定、及びその役割を明らかにしたものであり、博士の学位を授与するに値するものと考えられる。</p>	