The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Involvement of cyclophilin B in the replication of Japanese encephalitis virus
Author(s)	寒原, 裕登
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58107
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

【50】

氏　　名	寒　原　裕　登（かん　ばら　ひろ　と）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４３７２　号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学　位　論　文　名	Involvement of cyclophilin B in the replication of Japanese encephalitis virus （日本脳炎ウイルスの複製におけるcyclophilin Bの関与）
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］

日本脳炎ウイルス(JEV)はアジアを中心に年間約５万人が発症、約１万５千人が死亡している重篤な感染症であるがその治療法はまだ確立されておらず、獣医学ならびに医学分野で重要な研究分野となっている。そこで、本研究ではJEVの複製機構の解明及び複製をターゲットとする新たな薬剤の開発を目的とした。

［方法ならびに成績］

いくつかのウイルスに対して阻害効果が認められているCsA (Cyclosporin A)がJEVに対して阻害効果を示すかどうかを検討した。CsAを処理したJEV感染細胞内のウイルスタンパク質をウエスタンブロット法にて検出したところ、様々なcell lineでウイルスタンパク質の減少が認められた。また、フォーカスフォーミングアッセイにて培養上清中のウイルス力価を求めたところ、CsA処理により著しいウイルス力価の低下が認められたことから、CsAはJEVに対する阻害効果を示すことがわかった。次に、CsAのターゲットであるCyclophilin (Cyp)ファミリーに属するCypA, CypB, CypCに対する特異的なsiRNAを用い、ノックダウンすることでJEV感染に対する影響を検討した。その結果、CypBをノックダウンした際に、最もウイルスタンパク質の減少及びウイルス力価の低下が認められた。CypBがJEVのライフサイクルのどのステップに重要であるかを検討するため、JEVのエンベロープを持つVSV pseudotype virusを作製し、JEVの侵入時におけるCsAの阻害効果及びCypBのノックダウンの効果を検討したが、コントロールと比し、有意な変化は認められなかった。次に、JEVの複製のみを模倣したレプリコン細胞を樹立し、同様の効果を検討したところ、ウイルス複製の著しい低下が認められた。これらの結果から、CypBはJEVの複製において重要な役割を担っていることが示唆された。CypBのJEVの複製に対する影響をより詳細に明らかとするため、JEVの複製に重要であるウイルスタンパク質とCypBの免疫沈降実験を行った。その結果、CypBはJEVのNS4Aと結合することがわかった。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いた解析により、CypBとNS4Aはウイルス複製の場と考えられている小胞体にて共局在していることが観察された。以上の結果より、CypBはJEVのNS4Aと結合することで小胞体でのウイルス複製を支持していることが考えられた。

［総括］

CsAはそのターゲットであるCypBの機能を阻害することで、JEVの複製を抑制することが示唆された。この結果より、CsAの誘導体はJEVの阻害剤になる可能性が考えられる。

論文審査の結果の要旨

日本脳炎ウイルス(JEV)はアジアを中心に年間約5万人が発症、約1万5千人が死亡している重篤な感染症であるがその治療法はまだ確立されておらず、獣医学ならびに医学分野で重要な研究分野となっている。本研究では、JEVに対して阻害効果を示す薬剤であるCyclosporin A(CsA)を見出した。また、その薬剤ターゲットであるCyclophilin B(CypB)が

JEVの増殖に重要であることを明らかにした。さらに、CypBはJEVのタンパク質の1つであるNS4Aを相互作用していることがわかり、これらの結合がJEVのライフサイクルの複製に重要であることが考えられた。最後に、CypBとJEVのNS4Aは、共にウイルス複製の場と考えられている小胞体に存在していた。これらの成果はCsAの誘導体がJEVの阻害剤になる可能性を示唆しており、学位に値するものと認める。