

Title	Bornavirus Closely Associates and Segregates with Host Chromosomes to Ensure Persistent Intranuclear Infection
Author(s)	松本, 祐介
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59703
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	まつもと ゆうすけ 松本祐介
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 25655 号
学位授与年月日	平成24年9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	Bornavirus Closely Associates and Segregates with Host Chromosomes to Ensure Persistent Intranuclear Infection (宿主染色体を利用したボルナウイルスの核内持続感染機構)
論文審査委員	(主査) 教授 生田 和良 (副査) 教授 塩田 達雄 教授 松浦 善治

論文内容の要旨

〔目的(Purpose)〕

細胞核は細胞分裂における核膜の消失・核細胞質輸送・DNA複製といった非常に動的な環境にあり、ウイルスの長期的な持続感染の成立には独特の機構が必要となる。核内に持続感染するDNAウイルスはDNAゲノムのtetheringやインテグレーション、レトロウイルスはRNAゲノムの逆転写・インテグレーションといった機構によりそのゲノムを維持している。一方、RNAをゲノムとして持つRNAウイルスが核内に持続的にゲノムを維持する機構は全くわかっていない。

哺乳類由来RNAウイルスの中で、核を複製の場とするのはオルソミクソウイルスとボルナウイルスの2科のみである。インフルエンザウイルスに代表されるオルソミクソウイルスは細胞障害性が強いウイルスであるが、ボルナウイルスは細胞非傷害性に持続感染する。すなわち、ボルナウイルスは核内に持続感染する唯一の哺乳類由来RNAウイルスである。本研究では、ボルナウイルスのプロトタイプであるボルナ病ウイルス(BDV)の核内持続感染機構を解析することで、RNAゲノムを細胞核に維持するRNAウイルスの戦略の解明を目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

BDVはゲノムRNAをBDV核酸蛋白質(BDV N)で覆い、リボ核酸蛋白質複合体(RNP)の状態では核内に維持している。BDVが持続感染したヒトグリア由来培養細胞(OL細胞)を用い、RNPの核内局在を蛍光顕微鏡及び電子顕微鏡によって観察した。その結果、RNPは細胞分裂間期の核内において、クロマチン構造を足場にドット状構造物(vSPOT)を形成することが分かった。BDVのゲノム及びアンチゲノムRNAはvSPOT内部に含まれており、vSPOTはBDVの転写・複製の場であると考えられた。細胞分裂に伴いRNPはvSPOT構造を消失し、濃縮した染色体全体に顆粒状に散らばった。RNPはクロマチン繊維に絡まるように結合し、その結合を維持したまま染色体と共に娘細胞に運ばれることがわかった。

次にBDV RNPがクロマチン上でどのような宿主因子と結合しているのかを調べた。BDV持続感染OL細胞よりヌクレオソームを分離し、RNPとその結合蛋白質を免疫沈降した。質量分析及びウェスタンブロットの結果、RNPは宿主コアヒストンを介してクロマチンに結合していることがわかった。非同調及び分裂中期同調細胞いずれにおいても同様の結果が得られ、RNPは細

胞分裂周期を通じてコアヒストンを介してクロマチンに結合していることがわかった。

最後に、BDVの持続感染と宿主因子との関与を調べる為、RNP構成蛋白質の一つであるBDVリン酸化蛋白質(BDV P)と相互作用する宿主因子HMGB1に着目した。HMGB1はクロマチン構造変換因子であり、クロマチンとRNPとの相互作用に関係があると思われた。shRNAによるHMGB1ノックダウン(KD)BDV持続感染細胞を作成し、BDVの転写活性・持続感染率の変化を調べた。その結果、HMGB1 KDによってBDVの転写活性が減少することがわかった。さらに、HMGB1 KDによって分裂期染色体におけるRNPの結合が消失し、BDV感染率が徐々に減少することがわかった。以上のことから、HMGB1はBDVの転写活性と、RNPの染色体への結合を介した持続感染維持を制御していることがわかった。

〔総括(Conclusion)〕

BDVは細胞分裂周期を通じてコアヒストンを介した宿主クロマチンへのRNPの結合を維持しており、この機構によって核内で持続的なRNAゲノムの安定化を行うことがわかった。またその持続感染維持機構に宿主因子HMGB1を利用していることがわかった。

本研究により、RNAウイルスが核内でRNAゲノムを維持する、宿主染色体の安定性を利用した新たな戦略が明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本論文では、マイナス鎖一本鎖RNAウイルスであるボルナ病ウイルス(BDV)の細胞核内における持続感染機構を解明した。殆どのRNAウイルスは細胞質を複製の場とすることから、核内はRNAウイルスの増殖には不利な場所であると見做されてきた。また、核内は細胞分裂によって非常に動的な場となり、RNA分子の長期的な維持には過酷であると考えられている。本論文では、BDVがいかにしてこのような環境において持続感染を成立させるのかを、顕微鏡技術と分子生物学的手法を用いて明らかにした。BDVのリボ核酸蛋白質複合体が宿主染色体に結合し、その動態に強く依存した持続感染を行う機構は新規性に富んだ発見である。また本論文では核内宿主因子を利用した感染維持機構も明らかにしている。本研究は、宿主環境を利用したユニークなRNAウイルスの新たな生態を明らかにしており、生物学的・ウイルス学的に大変意義深く、学位授与に値すると思われる。