

Title	Infection with flaviviruses requires BCLXL for cell survival
Author(s)	鈴木, 達也
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72171
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"〉 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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 鈴木 達也	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 松浦 善治
	副 査 大阪大学教授 塩口 正行
	副 査 大阪大学教授 原 英二
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>アポトーシスは生体の恒常性維持、感染・免疫など様々な生理現象を担う重要な生体機能であり、BCL2タンパク質ファミリーはその中心的な役割を果たしている。本論文では、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ジカウイルスといったフラビウイルス感染におけるBCL2蛋白質の制御機構を検討している。その結果、フラビウイルス感染により、ウイルス感染細胞はBCLXLを阻害することでアポトーシスを誘導することを示した。また、ウイルス感染細胞におけるBCLXを阻害することの生体での意義の検討を行い、BCLX^{-/-}マウス、または、BCLX阻害剤投与により日本脳炎ウイルスの病原性が低下することを明らかにした。本論文では、BCLXを標的とすることで、様々なフラビウイルスウイルスに対する治療薬の創出に寄与できる可能性が示唆されており、医学的・社会的にも重要なものであると考えられる。よって、本論文は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。</p>	

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	鈴木 達也
論文題名 Title	Infection with flaviviruses requires BCLX _L for cell survival (BCLX _L はフラビウイルス感染細胞の生存に必須である)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>アポトーシスは生体の恒常性維持、感染・免疫など様々な生理現象を担う重要な生体機能であり、BCL2タンパク質ファミリーはその中心的な役割を果たしている。BCL2, BCLX_L, BCLW, MCL1といったBCL2蛋白質はBH3-only蛋白質やBAX/BAKの活性化を抑制することで定常状態を維持している。しかし、細胞が何らかの障害を受けるとBIM, BAD, NOXAなどのBH3-only蛋白質が発現誘導され、BCL2蛋白質によるBAX/BAKの抑制をキャンセルすることで、細胞死が実行される。近年報告されたガン分野での臨床研究では、慢性リンパ性白血病のがん細胞の生存は大きくBCL2に依存していることが明らかとなった。また、小胞体ストレス、DNAダメージや自然免疫応答といった様々なストレス刺激によってBCL2ファミリータンパク質の発現が変化することが知られている。そこで我々は、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ジカウイルスといったフラビウイルス感染時においても細胞にある種のストレスがかかることにより、BCL2蛋白質の発現が変化するのではないかと仮説を立て、フラビウイルス感染におけるBCL2蛋白質の制御機構を検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>レンチウイルスベクターを用いてBH3-only蛋白質のBADまたはNOXAを過剰発現させた細胞にHuh7細胞株を樹立し、日本脳炎ウイルスを感染させたところ、BAD発現細胞で顕著に細胞死が引き起こされた。また、BCL2、BCLX_L、BCLWの阻害剤であるABT-737、または、BCLX特異的阻害剤であるA-1331852を処理することによってフラビウイルス感染細胞に顕著な細胞死が誘導された。一方で、BCL2特異的な阻害剤であるABT-199処理では細胞死の誘導は生じなかった。さらにCRISPR/Cas9システムによりBCLXまたはMCL1を欠損させたHuh7細胞を樹立し、日本脳炎、デング、ジカウイルスを感染させたところ、BCLX欠損細胞でのみ顕著な細胞死が引き起こされた。したがって、フラビウイルス感染により、ウイルス感染細胞はBCLX_Lを阻害することによってアポトーシスを誘導することが示された。次に、ウイルス感染時のMCL1タンパク質の発現量をWBで解析したところ、ウイルス感染細胞では、MCL1タンパク質の発現が経時的に減少していた。また、ウイルス感染細胞の蛋白質合成を検討したところ、感染後2から3日後では、細胞全体の蛋白質合成の低下が認められた。したがって、フラビウイルスに感染すると、細胞の蛋白質合成が低下することによって、MCL1の様な半減期の短いタンパク質は速やかに分解されることが示された。さらに、BCLXを阻害して誘導されるアポトーシスの生理学的意義を検討するため、ウイルス感染細胞と食食細胞とを共培養した結果、BCLX_Lを阻害することで、ウイルス感染細胞は顕著に食食細胞に食食され、感染性粒子の産生やCCL5、CCL2やCXCL10といったケモカイン産生が有意に減少することが明らかとなった。最後に、ウイルス感染細胞におけるBCLXを阻害することの生体での意義の検討を行った。BCLX^{-/-}マウス、あるいは、BCLX阻害剤(ABT-263)投与により日本脳炎ウイルスの病原性が低下することを明らかにした。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>フラビウイルス感染細胞では、細胞全体での蛋白質合成が低下することによりMCL1のような不安定な蛋白質発現が低下するため、BCLXを阻害することでアポトーシスが亢進し、生体での病原性を低下できることが示唆された。したがって、BCLXを標的とすることで、様々なフラビウイルスウイルスに対する治療薬の創出に寄与できる可能性が示唆された。</p>	