

Moni Mpia Benedicte 論文内容の要旨

主 論 文

Ebola Virus GP Activates Endothelial Cells via Host Cytoskeletal Signaling Factors

エボラウイルス GP は宿主の細胞骨格シグナル伝達因子を介して内皮細胞を活性化
する

Moni Mpia Benedicte, 櫻井 康晃, 安田 二郎

Viruses, 14 巻, 1 号, 142, DOI:10.3390/v14010142, 2022 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系 専攻
(主任指導教員: 安田 二郎 教授)

緒 言

エボラウイルスは、ヒトや多くの哺乳動物に感染することで重篤な疾患であるエボラ出血熱を引き起こす。その重症者における主な症状には異常な体液漏洩や出血があり、それらの要因としてエボラウイルスの表面糖タンパク質 (GP) が誘起する血管内皮バリア機能の破綻が報告されている。しかしながら、その分子メカニズムの詳細は未解明のままである。そこで本研究では、上記の血管内皮細胞が関わる病態を再現可能な *in vitro* モデルシステムを開発し、それを用いて治療標的となり得る分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

対象と方法

エボラウイルス様粒子 (VLP) は、3 種類のウイルスタンパク質 GP、VP40、NP をそれぞれ発現するプラスミドをヒト腎臓由来 293T 細胞に導入し、その培養上清を超遠心により濃縮・精製することで調製した。血管内皮モデルとしてはヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を使用し、それを上記で調製した VLP や組換え TNF- α に暴露し、intercellular adhesion molecules-1 (ICAM-1) の発現を免疫染色法により検出した。VLP による細胞障害は Cell Counting Kit 8 assay 及び細胞核染色、アポトーシスは TUNNEL 法により評価した。これら蛍光シグナルは、SpectraMax iD5 マルチモードプレートリーダー (Molecular Devices 社) 及び Cytation 5 イメージングプレートリーダー (BioTek 社) により検出した。化合物スクリーニングには Cytoskeletal Signaling

Pathway Compound Library (Selleck 社) を用いた。

結 果

VLP に暴露することで、HUVEC において内皮細胞活性化マーカー ICAM-1 の発現上昇が認められたが、GP を含まない VLP ではその発現上昇が認められなかったことから、HUVEC の活性化は GP 依存的であることが分かった。更に、VLP への暴露により細胞障害も認められ、アポトーシスが誘導されていることが分かった。TNF- α で処理した場合には、ICAM-1 の発現が 12 時間後をピークにその後減少することが認められたが、VLP に暴露した場合には 72 時間後にかけて尚発現上昇が認められことから、両者による HUVEC 活性化は異なる動態を示すことが分かった。更に上記で確立した系を用いて ICAM-1 の発現誘導を阻害する化合物のスクリーニングを実施した結果、複数の細胞骨格制御因子に対する阻害剤がヒット化合物として同定された。特に focal adhesion kinase (FAK) を標的とするほぼ全ての阻害剤が、VLP 及び TNF- α によって誘導される ICAM-1 の発現上昇を濃度依存的に抑制した。

考 察

本研究により、エボラウイルス感染による血管内皮細胞の活性化と細胞障害を定量解析可能な *in vitro* システムが確立され、これを用いることでエボラ出血熱の血管内皮に関わる病態の分子機序解析と治療薬候補の探索が可能であることが実証された。これまでの報告と同様に血管内皮細胞への影響が GP 依存的であることが認められたが、エボラウイルスによる細胞障害がアポトーシスを介していることや、血管内皮に直接作用する TNF- α とは異なる動態かつ異なる宿主因子の関与により VLP が血管内皮活性化を誘導することも新たに分かり、本病態ではこれまで考えられていた以上にウイルス・宿主間の複雑な相互作用が関わっていることが示唆された。更に化合物スクリーニングにより、宿主の細胞骨格を制御する因子群が上記のメカニズムには重要な役割を果たしていることが明らかとなった。特に FAK 阻害剤については、本病態の中心的な役割を果たしていることが報告されている GP と TNF- α の両方による血管内皮活性化を抑制したことから、FAK を含む宿主シグナル伝達経路はエボラ出血熱に対する新しいタイプの治療薬の標的となる得ることが示唆された。

(備考) ※2000 字以内で記述。A4 版。