

氏名（本籍）	やまもと よしこ 山本 佳子	（ 兵庫県 ）
学位の種類	博士（医学）	
学位授与番号	甲 第 664 号	
学位授与日付	平成 31 年 3 月 14 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
学位論文題目	Cell-to-cell transmission of HSV-1 in differentiated keratinocytes promotes multinucleated giant cell formation	
審査委員	教授 齊藤 峰輝	教授 尾内 一信 教授 曾根 照喜

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

単純ヘルペスウイルス（HSV）感染症では、表皮内に棘融解細胞や多核巨細胞を含む小水疱が形成される。HSV の表皮への侵入・増殖とこれら病変の形成には、表皮ケラチノサイトの分化状態が重要と考えられているが、その詳細は明らかでない。一方、細胞外 Ca^{2+} 濃度の上昇がケラチノサイトの分化に寄与することが広く知られている。そこで本研究では、ケラチノサイト培養細胞株を低 Ca^{2+} /高 Ca^{2+} 濃度で培養することで、ケラチノサイトの分化状態が HSV の侵入と増殖、HSV-1 感染後の感染細胞の形態、細胞間接着/細胞骨格蛋白の発現量と分布、感染拡大、多核巨細胞形成に及ぼす影響を検討した。多核巨細胞形成の解析には、新たに確立した Cell Tracker dye による可視化モデルを用いた。

ケラチノサイトに HSV-1 を感染させると、低 Ca^{2+} /高 Ca^{2+} 濃度培養条件下で細胞骨格蛋白量・細胞間接着蛋白量にほとんど変化はなかったが、細胞内の分布が大きく変化した。HSV-1 は未分化ケラチノサイトに効率よく侵入するが、ウイルス複製効率は分化ケラチノサイトの方が良好であった。HSV-1 感染により、高 Ca^{2+} 濃度培養条件下の分化ケラチノサイトは多核巨細胞を呈したが、低 Ca^{2+} 濃度培養条件下の未分化ケラチノサイトは多核巨細胞を形成できず、単核円形細胞となった。この原因が、未分化ケラチノサイトでは細胞膜融合が起こらず cell-to-cell による感染拡大のみが起こる一方で、分化ケラチノサイトでは cell-to-cell による感染拡大と隣接細胞との膜融合の双方が起こるためであることを示唆する結果を得た。

本論文は、表皮ケラチノサイトの分化状態と細胞外 Ca^{2+} 濃度が、HSV 感染に特徴的な皮膚病変の形成に及ぼす分子機構をはじめて明らかにした、医学的にきわめて重要な研究報告である。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

本申請者の学位審査会は2018年12月18日に開催された。まず申請者から15分間程度のプレゼンテーションがなされ、それを受けて約15分間にわたって3名の審査委員と質疑応答が行われた。

まず申請者から、本研究を実施するに至った背景と具体的な実験手法、主要な結果と考察について、発表論文内容に沿って説明がなされた。従来の研究から、HSV感染による皮膚病変の形成に密接に関与すると考えられている細胞外Ca²⁺濃度と標的細胞の分化状態が、具体的にHSVの感染細胞への侵入効率と細胞形態、細胞内でのウイルス増殖効率、cell-to-cellによる感染拡大、細胞膜融解を伴う細胞膜融合に及ぼす影響について、既存の実験法に加えて申請者が新たに開発したCell Tracker dyeによる可視化モデルを駆使して解明されたことが簡潔かつ明瞭に示され、その学問的意義を十分に理解できた。

その後審査委員から、他の水疱形成ウイルスにおける病態形成との類似点があるか否か（回答：可能性あり）、高Ca²⁺濃度条件下で多核巨細胞が形成されることのウイルスにとって有利な点は何か（回答：ウイルス増殖に有利）、今回の実験を発案した背景（回答：細胞外Ca²⁺濃度の上昇とケラチノサイトの分化状態が皮膚病変形成に重要であるが、詳細が明らかでない）、なぜ2種類の細胞株を使用したのか（回答：不死化培養細胞と初代培養細胞であるため）等について質問があり、概ね適切な回答が得られた。また、今回の研究成果の臨床応用についても有意義な討議がなされ、研究の現状と将来の治療法開発についての展望が示された。

以上より、申請者によっておこなわれた今回の研究は、当該領域におけるインパクトを持つ、学位論文に相応しい優れた内容であり、また申請者自身の研究領域における知識量と今後の研究遂行能力についても十分と判断され、最終試験の結果として合格とした。