



Title	ヒトヘルペスウイルス6(HHV-6)U3遺伝子の解析
Author(s)	森, 康子
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40768
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

氏名	もり 森 康子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13707 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	ヒトヘルペスウイルス6(HHV-6) U3遺伝子の解析 (ANALYSIS OF HUMAN HERPESVIRUS6 (HHV-6) U3 GENE)
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一 (副査) 教授 田野 保雄 教授 上田 重晴

論文内容の要旨

【目的】

HHV-6は突発性発疹の原因ウイルスであり、全長約160kbpの二本鎖DNAウイルスである。分子生物学的解析により、 β ヘルペスウイルス亜科に属し、human cytomegalovirus (HCMV)に近縁のウイルスであることが知られている。HCMVのUS22遺伝子に認められる特徴的アミノ酸配列はUS22familyと呼ばれていて、US22familyはHCMVの他mouse cytomegalovirusでも見られ、HHV-6においてもそのホモロジが同定されている。US22family遺伝子のいくつかはHIV-LTRをtransactivateすることが報告されており、in vivoにおいてもUS22family遺伝子はHIV遺伝子発現に重要な影響を与えている可能性が考えられる。しかし、HCMV、HHV-6がコードするUS22family遺伝子のウイルス感染細胞中における機能は未だ不明である。本研究はUS22familyに特徴的なモチーフをもつ未知の遺伝子であるHHV-6U3遺伝子のウイルス感染細胞中における動態およびその機能を明らかにすることを目的とした。

【方法および成績】

HHV-6A感染細胞より抽出したmRNAを用いたNorthern blot解析の結果より、U3ORFをプローブとして、6種のtranscript(7.5, 5.5, 3.5, 2.8, 2.0, 1.8kb)が検出された。U3遺伝子内と上流領域を含んだプローブでは7.5, 5.5, 4.2, 3.5, 2.4, 2.0kbのtranscriptが検出されたがU3遺伝子の上流に位置するプローブでは3.5kbと2.0kbのtranscriptが検出できなかった。またNorthern blotの結果より、U3遺伝子をコードしているtranscriptは3.5kbと2.0kbであることが確認された。次に、HHV-6A株をアストロサイトマ株細胞U373細胞に感染させ、抗U3血清を用いて蛍光抗体法にて、U3蛋白の発現を検討した。U3蛋白は感染後24時間で初めて検出され、72時間後までに核周辺部に多量に蓄積した。しかしU3蛋白の発現はリンパ球系の細胞で検出することはできなかった。さらにウイルスDNA polymerase阻害剤であるphosphonoformic acid(PFA, 200 μ g/ml)の存在下ではU3蛋白は検出されず、U3蛋白は早期蛋白でないことが確認された。また、U3蛋白の局在を詳細に調べるために、U3蛋白を単独で発現させることによりその局在を観察した。U373細胞にU3遺伝子を導入し、二重染色を行ったところ、U3蛋白はERマーカーであるPDIと共に局在した。さらに、U3遺伝子が調節遺伝子であるか否かを見るために、U3遺伝子をもつplasmid, pCA3とHIV-LTRにluciferase遺伝子を融合させたreporter plasmid, pHLを同時に293T細胞に導入し、

luciferase 発現の変化を測定した。その結果、U3 遺伝子は HIV-LTR を transactivate した。

【総括】

U3遺伝子に関するtranscriptを決定する目的でNorthern blot解析を施行したが、その結果3.5kbと2.0kbの二つのtranscriptがU3に関与していることが示唆された。また、二つのtranscriptは同じ5'末端をもつことが考えられ、二つのtranscriptは同じ蛋白をコードするものと推測された。cDNAライブラリーのスクリーニングの結果、 5×10^6 個のクローンの内U3領域を覆うクローンは15個であった。また、感染細胞より抽出した全RNAによるNorthern blotではtranscriptを検出することができず、mRNAの状態ではじめて検出することができた。これらの結果より、U3をコードするtranscriptの量はかなり少ないと考えられる。U3蛋白の発現量が少ないと、また二つのtranscriptが存在することより、この遺伝子はウイルスの遺伝子調節あるいは蛋白発現に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、PFA存在下ではU3蛋白は検出できなかったことより、U3蛋白は後期蛋白、あるいは、初後期蛋白である可能性が考えられた。さらに、U3を単独で発現させた二重染色でU3はERに局在することより、U3は細胞性あるいは他のウイルス性蛋白の輸送に寄与していることが推察された。一方、U3遺伝子はHIV-LTRをtransactivateすることができた。しかしU3蛋白は核ではなく細胞質に局在することより、直接的に結合してHIV-LTRをactivateすることは考えにくく、NF- κ Bのような細胞性の因子に作用することにより間接的にactivateしていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

US22family は Human cytomegalovirus の他 Mouse cytomegalovirus でも見られ、Human herpesvirus-6 (HHV-6) においてもそのホモログが同定されているが、US22familyのウイルス感染細胞中における機能は未だ不明である。本研究は US22family に属する未知の遺伝子である HHV-6U3 遺伝子のウイルス感染細胞中における動態およびその機能を解析したものである。

- 1) U3 遺伝子をコードしている transcript は 3.5kb と 2.0kb の 2 種であり、同じ蛋白をコードしていることが示唆された。
 - 2) U3 蛋白は HHV-6 感染後、後期に出現する蛋白であり、核周辺すなわち小胞体に局在することが明らかとなり、今までに報告されている US22family とは違った局在を示した。
 - 3) U3 蛋白は HIV-LTR を間接的に transactivate することが明らかとなった。

以上の様に本論文は未知の遺伝子である U3 遺伝子の HHV-6 感染細胞中における発現およびその動態をはじめて証明し、HIV-LTR に対する transactivator 能を明らかにした。よって博士論文として価値あるものと認める。