

Title	Transcriptional Regulation of the Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Viral Interferon Regulatory Factor Gene
Author(s)	謙, 济国
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41837
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	謹 啓 國
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15254 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病理系専攻
学位論文名	Transcriptional Regulation of the Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Viral Interferon Regulatory Factor Gene (カポシ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードするウイルスインターフェロン制御因子遺伝子(vIRF)の発現制御の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一 (副査) 教授 上田 重晴 教授 生田 和良

論文内容の要旨

【目的】

カポシ肉腫関連ウイルス(KSHV)／ヒトヘルペスウイルス8(HHV8)はカポシ肉腫の原因ウイルスとして近年同組織から分離され、Castleman病やbody cavity-based lymphoma(BCBL)／primary effusion lymphoma(PEL)の原因ウイルスとしても認識が高まりつつある。Epstein-Barr virus(EBV)と相同性が高く発癌性を有する γ ヘルペスウイルス属の一つとされ、細胞増殖を促進する活性をもつものと考えられるが、その機序は明確ではない。KSHVはヒトインターフェロン制御因子(IRF-1)の相同遺伝子K9/vIRFをコードし、免疫反応や細胞周期の制御に関わっているものと考えられる。これまでの報告によるとK9/vIRFはインターフェロンによるシグナル伝達を阻害したり、NIH3T3細胞をトランスフォームする活性を有することが知られ、K9/vIRFがKSHV/HHV8の発癌性に強く関っていることを示唆している。

本報告ではK9/vIRFの発現制御について解析し、潜伏感染状態でも低レベルでの発現が認められること、その発現様式はTPAによるウイルス増殖誘導時にみられるものとは異なっていること、さらに前初期遺伝子の一つでEBVのBRLF1(Rta)の相同遺伝子KSHV/Rta/ORF50がTPAと異なる発現制御をしていることなどを見出した。

【方法と結果】

K9/vIRFの潜伏感染時や溶解複製時における発現様式を5'RACE(rapid amplification of cDNA ends)法、プライマー伸長法やRT-PCR法などによりRNAレベルで検討した。K9/vIRF遺伝子の発現調節領域を種々の5'欠失変異体-ルシフェラーゼの構築によるレポーターアッセイで検討した。またKSHV/Rta/ORF50遺伝子の全長をクローニングし、KSHV/Rta/ORF50遺伝子産物によるK9/vIRF遺伝子の発現動態を検討するとともにKSHV/Rta/ORF50遺伝子産物の発現や細胞内局在を検討した。

K9/vIRF遺伝子は潜伏感染時でも発現していることを証明し、また潜伏感染時とウイルス増殖時とは異なった転写開始点をもつことを明らかにした。検出に要したRNA量を考慮すると潜伏感染時における発現量はウイルス増殖時の10分の1以下であると思われた。増殖期では約20塩基上流のTATA boxを利用した転写が行われることが同部位の変異体を用いた解析で判明した。これに対して潜伏感染時の発現はその上流に明らかなTATA boxは認められず、いわゆるGC box等を介したbasal levelでの発現が行われているものと推測された。5'端の欠失変異体を

用いた検討では TPA と KSHV/Rta/ORF50 は異なるシスエレメントを介して制御していることが示唆された。特に KSHV/Rta/ORF50 は SP1 もしくは AP1 様の motif をトランスに制御している可能性が示唆された。これらの結果は K9/vIRF 遺伝子の最大発現には TPA による KSHV/Rta/ORF50 の活性化と TPA による宿主遺伝子の活性化を介した機構が相乗的に作用する機構が存在することを示すものと思われた。

KSHV/Rta/ORF50 は一つのイントロンをもつ 691 アミノ酸をコードする遺伝子であるが、N 末の核移行シグナル様の配列が核内移行と転写活性化に必要な領域であることが示された。また KSHV/Rta/ORF50 は K9/vIRF 遺伝子のみならず、ORF59/DNA ポリメラーゼ遺伝子も転写レベルで活性化することが明らかとなった。

【総括】

1. K9/vIRF 遺伝子は潜伏感染時でも発現しているが、潜伏感染時とウイルス増殖期とで異なった転写開始点から発現される。
2. TPA と KSHV/Rta/ORF50 とは一時的に K9/vIRF 遺伝子発現制御領域の異なった部位を活性化する。
3. KSHV/Rta/ORF50 の N 末に存在する核移行シグナル配列は核移行と転写活性化に必須と考えられる。
4. KSHV/Rta/ORF50 は単独で K9/vIRF 遺伝子、ORF59/DNA ポリメラーゼ遺伝子を転写レベルで活性化できる。

論文審査の結果の要旨

カポシ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) は新たに発見された腫瘍原性と関連の深いヘルペスウイルスで多くのヒト遺伝子ホモログを遺伝子に取り込んでいる。その内のひとつである K9 遺伝子はヒトインターフェロン制御因子 (IRF) の相同遺伝子で、その発現はウイルスの転写、複製はもとより発癌にも強く関わっているものと考えられている。本研究は K9 遺伝子の発現制御機構を明らかにすることを目的として行われた。まず K9 遺伝子が潜伏感染時において少量ながら発現していること、しかもその転写が約 50 塩基上流から始まるなど新しい事実を発見した。増殖感染時には K9 遺伝子発現制御領域がホルボールエステル (TPA) および ORF50 に応答することを明らかにし、両者ともに SP1 様配列や AP1 様配列を介している可能性を示した。ORF50 は Epstein-Barr ウイルス (EBV) の前初期遺伝子で転写因子である BRLF1 (Rta) の相同遺伝子で増殖感染開始の指令因子として機能していると思われる極めて重要な遺伝子である。著者らはこの遺伝子転写産物の構造を明らかにするとともに N 末 60 アミノ酸が核移行と転写活性化に関わることを世界に先駆けて明らかにした。このように多くの新しい知見を得、今後の研究の発展に大きな期待を抱かせる極めて優れた論文であり、学位の授与に充分値するものとする。