

Title	Accumulation of the Heterochromatin Components on the Terminal Repeat Sequence of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Mediated by the Latency-Associated Nuclear Antigen
Author(s)	榊原, 修平
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45547
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	さかき ばら しゅう へい 榊 原 修 平
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19283 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Accumulation of the Heterochromatin Components on the Terminal Repeat Sequence of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Mediated by the Latency-Associated Nuclear Antigen. (カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス核抗原 LANA によるヘテロクロマチン因子のウイルスゲノム末端反復配列での集積。)
論文審査委員	(主査) 教授 山西 弘一 (副査) 教授 青笹 克之 教授 生田 和良

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (以下 KSHV) は、そのゲノム配列の類似性から Epstein-Barr virus などを含むガンマヘルペスウイルス亜科に属し、他のガンマヘルペスウイルス同様、宿主細胞において潜伏感染する特徴を持つ。KSHV はカポジ肉腫や primary effusion lymphoma (PEL) などの腫瘍性疾患との強い関連が示唆されているが、それらの病変部を形成する感染細胞で、KSHV は潜伏感染しており、娘ウイルスの産生を伴う lytic replication は、ごく一部の細胞にのみ観察される。したがって、KSHV の潜伏感染の動態を明らかにすることが KSHV 関連疾患を理解する上で重要である。

KSHV 潜伏感染細胞では、KSHV は染色体外 DNA (エピゾーム DNA) として存在している。約 170 kb の環状二本鎖 DNA であるウイルスゲノムは、ウイルス核抗原 LANA (latency-associated nuclear antigen) に依存して複製・維持される。つまり LANA は、KSHV の潜伏感染に必須であり、全ての KSHV 感染細胞で発現している。LANA はウイルスゲノムの末端反復配列 (terminal repeat sequence : TR) に特異的に結合し、その領域に DNA 複製を開始させる ORC (Origin Recognition Complex) を誘引すると考えられている。

潜伏感染におけるウイルス遺伝子の発現は厳密に制御されており、株化された PEL 由来の細胞では、80 以上ある遺伝子のうち LANA を含むごくわずかな遺伝子のみ発現が検出される。この遺伝子発現抑制における LANA および宿主蛋白質との相互作用について以下の研究を行った。

〔方法ならびに成績〕

ウイルスエピゾームは宿主細胞核内で LANA と局在を共にしていることがすでに報告されている。間接蛍光抗体法で LANA の局在が宿主細胞のヘテロクロマチン領域に集積することを確認した。この局在は、LANA とヘテロクロマチン蛋白質との相互作用の結果であると考え、いくつかの蛋白質との相互作用を検討した結果、ヒストンメチルトランスフェラーゼである SUV39H1 がその標的であることがわかった。

HEK293 や Vero などに LANA を発現させると核内全域に拡散し、SUV39H1 やヘテロクロマチン蛋白質 HP1 と LANA の共局在は観察されないが、多コピーの TR 配列を持つ DNA を導入し LANA を TR に集積させると共局在が観察できた。レポーターアッセイから、SUV39H1 は LANA の転写抑制機能を促進することも明らかになった。

さらに PEL 由来の細胞株 BC3 を用いたクロマチン免疫沈降実験 (ChIP) で、ウイルスゲノムの TR、および潜伏時には発現していない ORF K1 領域に HP1 やメチル化ヒストン H3 の存在が検出された。加えて、lytic replication の誘導因子 RTA をコードしている ORF50 領域にも HP1 が存在していた。したがって、潜伏時の RTA の発現抑制を説明できる結果を得た。

[総括]

以上の結果から、ウイルス遺伝子の大部分が潜伏時に抑制されているのは、ウイルスエピゾームのヘテロクロマチン化によることが示唆された。これは、LANA が SUV39H1 を TR 領域へ誘導することで開始されると考えられる。

KSHV の潜伏感染では、LANA や宿主ヘテロクロマチン因子などはたらきで、ウイルス遺伝子の発現が著しく抑制されているが、一方で LANA は KSHV 感染しているすべての種類の細胞において観察される。LANA は KSHV ゲノムの複製に不可欠な蛋白質であるので、LANA の発現を維持するための機構が必要となる。このような矛盾は、高等真核細胞にみられる隣接した活性化遺伝子と不活性化遺伝子の調節 DNA 領域「インスレーター」の存在によって解決できると考えられる。現在、KSHV ゲノム上に存在するインスレーターの同定を試みている。

論文審査の結果の要旨

申請者の研究は、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) の潜伏感染におけるウイルス遺伝子の発現制御について行われた。今回の研究から明らかにされた KSHV 潜伏感染核抗原 LANA と宿主細胞のヘテロクロマチン因子である SUV39H1 との相互作用は、KSHV の潜伏感染を理解する上で非常に興味深い。つまり、核内に環状二本鎖 DNA として維持されているウイルスゲノムに LANA が結合し、同時にヒストンメチルトランスフェラーゼである SUV39H1 を引き寄せることで、ウイルスゲノム上にヘテロクロマチン構造を誘導し、ウイルス遺伝子の再活性化を抑制していることを明らかにした。この研究における新しい知見は、ヘルペスウイルスの潜伏感染において宿主因子によるエピジェネティックな遺伝子発現制御が関与しているという点であり、今後におけるこの分野の研究発展が多いに期待できる。以上のような理由から、申請者の研究論文は学位に値するものと認める。