The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes
Author(s)	堀江, 真行
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58223
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

【21】

氏　　名	堀　江　真　行（ほり え まさ ゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４１７２　号
学位授与年月日	平成22年9月22日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学　位　論　文　名	Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes （哺乳動物ゲノムに内在する非レトロウイルス型RNAウイルス因子）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　生田　和良 （副査） 教　授　松浦　善治　　教　授　塩田　達雄

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

ボルナウイルスはマイナス鎖一本鎖RNAウイルスであり、非細胞傷害性感染と細胞核内での複製を特徴とする。細胞核内で複製を行うRNAウイルスはボルナウイルスとオルソミクソウイルスのみである。オルソミクソウイルスが細胞傷害性の感染を示す一方、ボルナウイルスは非細胞傷害性の永続的な感染を成立させる。すなわち、ボルナウイルスは核内に寄生できる唯一のRNAウイルスであると考えられ、その持続感染機構・複製機構の解明により、RNAウイルスの新たな感染現象や、核内RNA分子に関する新たな知見が得られると考えられる。本研究は、ボルナウイルスの持続感染機構・複製機構の解明によるRNAウイルスと宿主細胞の新たな相互作用の発見を目的として行われた。

〔　方法ならびに成績　〕

はじめに、ボルナウイルスが何らかの宿主因子を模倣し、あたかもウイルスが宿主細胞の一部であるかのように振る舞うことによって持続感染を成立させているのではないかという仮説のもと、ボルナウイルスの各タンパク質の類似タンパク質の検索を行った。その結果、ヒトゲノム中にボルナウイルスのN遺伝子に類似する2つの配列を発見した。加えて、これらの配列は周辺にボルナウイルスの転写シグナルの類似配列を有しておりボルナウイルスのゲノムと構造が酷似していることから、内在性ボルナウイルス様Nエレメント（Endogenous Borna-like N element: EBLN）と名付けた。さらにデータベース検索により、EBLNがヒト以外の霊長類や、マウス・ラット・ジリスなどの齧歯類、さらにはゾウなどの様々な哺乳動物に存在することを明らかにした。霊長類のEBLNの一部はORFが保存されており、RT-PCRにより、一部のEBLNがmRNAとして発現していることが示された。

次に、得られたEBLNとボルナウイルスのN遺伝子の配列を用い、進化学的解析を行った。解析の結果、EBLNは過去にボルナウイルスのN遺伝子が内在化することに生じたということが示唆された。すなわち、EBLNはボルナウイルス感染の化石であると考えられた。EBLNのうち、真猿類のEBLNは4000万年以上前に真猿類EBLNが形成されたことが示唆された。

過去にボルナウイルスの内在化が起こったということは、ボルナウイルス感染細胞においてウイルスRNAの逆転写と、宿主ゲノムへの組み込み（インテグレーション）が起こったことを意味する。しかし、ボルナウイルスはこれらに関与する酵素をコードしていない。そこで、現存するボルナウイルスであるボルナ病ウイルス（Borna disease virus: BDV）を用いて検討を行った。

BDV感染細胞からDNAを抽出し、PCRを行った結果、BDV感染細胞においてBDV cDNAが合成されていることが示された。また、様々なプライマーを用いたPCRにより、BDV cDNAはmRNAに由来することが示唆された。さらに*Alu*-PCRにより、BDV cDNAが宿主ゲノムにインテグレーションされていることを明らかにした。次に、Novel Alu-PCRおよびインバースPCRによりインテグレーションされたBDV cDNA及び、その周辺の宿主ゲノム配列の同定を行った。その結果、BDV cDNAの多くが3’側にポリA配列を有しており、5’側ではmRNAの開始点、もしくはその下流からインテグレーションされていることがわかった。BDV cDNAに隣接する宿主ゲノム配列に特異性は見られなかったが、ゲノム配列の再編成が起こっているものや、インテグレーションされたBDV cDNAを挟んだ宿主ゲノム配列の重複などが見られた。これらの特徴から、BDV RNAの逆転写に、宿主細胞のレトロトランスポゾンであるLong interspersed nucleotide element (LINE)の関与が示唆された。

〔　総　　括　〕

本研究により、世界で初めてのRNAウイルスの化石が発見された。また、真猿類のEBLNの解析により4000万年以上前にボルナウイルス感染が起こっていたことが示唆され、EBLNは最古のRNAウイルス感染の証拠であると考えられた。また、霊長類の一部のEBLNは何らかの機能を担っていることも示唆された。

一方、BDV感染細胞において、BDVの逆転写及び宿主ゲノムへのインテグレーションを証明し、宿主のLINEが逆転写・インテグレーションを触媒していることが示唆された。このような機構はこれまでに報告されておらず、RNAウイルスと宿主細胞の新たな相互作用を見出すことに成功した。また、BDVのインテグレーションにより、BDV感染が変異原となる可能性が考えられ、BDVの新たな病原性も示唆された。

このように、ウイルス学・進化生物学・細胞生物学など様々な分野に新たな概念・知見を提供することができた。

論文審査の結果の要旨

哺乳動物ゲノムの約10%が、内在性レトロウイルスと呼ばれるレトロウイルス由来の配列によって占められており、それらは過去のレトロウイルス感染の化石であると考えられている。一方、これまでにレトロウイルス以外のウイルスの内在化は見つかっていない。今回、ヒトを含む様々な哺乳動物ゲノムに、RNAウイルスであるボルナウイルスのヌクレオプロテイン（N）遺伝子が内在化していることを発見した。これは世界で初めてのRNAウイルスの化石の発見である。また、ボルナウイルス感染細胞において、ウイルスのmRNAが宿主のレトロトランスポゾンである、LINEの作用を介して宿主細胞ゲノムに組み込まれることを示し、RNAウイルスと宿主細胞の新たな相互作用を解明した。本研究により、ウイルス学のみならず多岐の分野にわたる新たな概念が提唱され、生物科学に多大な影響を与えたことから、学位の授与に値すると考えられる。