

学 位 論 文 題 名

JC ウイルスの増殖に関与する因子の検討：

Human T-lymphotropic Virus Type I (HTLV- I)

共感染における Tax の影響と機能未知蛋白 Agno の解析

学位論文内容の要旨

ヒト進行性多巣性白質脳症（Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: PML）の原因ウイルスであるJCウイルス（JCV）は5,130 bpの2本鎖環状DNAウイルスで、Simian Virus 40（SV40）や BK virus（BKV）と同じポリオーマウイルス科に分類される。JCVが効率よく増殖し得るのはヒト脳のグリア細胞、特にオリゴデンドログリアに限定されており、培養細胞レベルでもJCV許容細胞は数少ない。このJCVの許容範囲の狭さは、以前は受容体の細胞特異性に起因すると考えられていたが、現在では転写因子など受容体以外の因子が、JCVの宿主および細胞特異性を規定していると推察されている。

PMLは通常宿主の免疫抑制を契機に発症し、近年AIDSの流行や臓器移植治療の普及に伴って、世界的に増加傾向にある。一方、日本はHTLV-Iの多発地域であるが、最近日本で、HTLV-I感染に併発したPMLの報告が数例なされた。これらの症例では免疫不全状態がなく、かつ通常のPMLよりも重篤な脱髄性病変を呈したことから、HTLV-I 感染によってJCVの増殖が活性化された可能性が示唆された。そこで本研究第I章では、HTLV-I TaxがJCVの転写を活性化するかどうかを、培養細胞を用いて実験的に検討した。その結果、TaxはJCVの初期・後期蛋白の転写を活性化し、その作用機序はJCVの調節領域に存在するNF- κ B 結合領域を介したものであることが明らかとなった。また、このTaxによるJCV転写活性化は、神経・グリア系細胞特異的に認められ、その原因として、非神経系細胞に特異的なNF- κ BおよびTax結合蛋白の存在が示唆された。近年PMLは、AIDS随伴脳症として世界的に増加傾向にあるが、特に日本においては、HTLV-I感染もPML発症の危険因子になり得ることが示された。

JCV発現蛋白のひとつであるagnoproteinは後期蛋白転写領域の最上流に位置し、調節領域の

直後にコードされている、71アミノ酸、分子量約8,000の蛋白であるが、その機能は未だ明らかでない。そこで本研究第II章では、JCV agnoproteinを特異的に認識するポリクローナル抗体を用いてJCV感染細胞におけるagnoproteinの局在を検討した。またagnoproteinの1-49番目のアミノ酸にコードされている核移行シグナル（Nuclear Localizing Signal: NLS）様配列と、核外移行シグナル（Nuclear Exporting Signal: NES）様配列に着目し、これらのアミノ酸配列の機能およびリン酸化との関連について検討した。さらに、agnoproteinを欠損したJCVはその増殖が著しく遅延したことから、agnoproteinがウイルスの転写に及ぼす影響について検討した。その結果、agnoproteinはJCV発現蛋白の中で唯一細胞質に存在し、ウイルス粒子とは局在が異なることが明らかとなった。しかしながら、agnoproteinは機能性のNLSとNESを有することから、通常はNESが優位となって細胞質に存在し、リン酸化以外の何らかの機序によって核内に移行すると考えられた。また、agnoproteinのあるpopulationはJCV感染細胞内でウイルスDNAと結合していること、agnoprotein欠損ウイルスはその増殖が遅延することから、agnoproteinはJCVの増殖を促進的に制御している可能性が示唆された。その作用機序はウイルスの転写活性化ではなく詳細は未だ不明であるが、致死性感染症であるPMLに対する治療法の開発に有用な知見であると考えられた。

JCVはゲノム長がわずか5,130bpであるにも関わらず、その宿主特異性からモデル動物を用いた解析が不可能であり、許容細胞も限定されること、またスローウイルスと称されるように増殖速度が緩慢であることが解析を困難にしている。しかしながらPMLの治療法開発は、感染症コントロールの面のみならず、移植治療においてもその成否を左右する重要な要素になると考えられる。また最近の疫学的研究から、JCVが水や食物を介して経口的に感染・伝播する可能性が提唱されていること、また実験的にJCVはヒト以外の様々な動物細胞にも侵入可能であることから、ヒト以外の動物にもJCVが潜伏感染し、ヒトへの感染源になり得ることが考えられる。

第I章では非許容細胞における転写抑制因子の存在を示唆したが、今後このような転写因子の解析から宿主細胞特異性決定因子が明らかになれば、その因子のトランスジェニック動物を用いたモデル動物の樹立が可能になるであろう。さらにそのモデル動物を用いて、第II章で示したagnoproteinのような増殖促進因子を標的とした治療法の評価が可能になると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 梅 村 孝 司

副 査 教 授 喜 田 宏

副 査 教 授 斉 藤 昌 之

副 査 教 授 長 嶋 和 郎 (医学研究科)

学 位 論 文 題 名

JC ウイルスの増殖に関与する因子の検討：

Human T-lymphotropic Virus Type I (HTLV- I)

共感染における Tax の影響と機能未知蛋白 Agno の解析

ヒト進行性多巣性白質脳症 (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: PML) の原因ウイルスであるJCウイルス (JCV) は5,130 bpの2本鎖環状DNAウイルスで、Simian Virus 40 (SV40) や BK virus (BKV) と同じポリオーマウイルス科に分類される。BKVの疾病への関与は明らかでないが、SV40は腫瘍抗原を有し、神経向性型はサルにおいてPMLに類似した脱髄病変を惹起する。

PMLは通常宿主の免疫抑制を契機に発症するため、近年AIDSの流行や臓器移植治療の普及に伴って、世界的に増加傾向にある。一方日本はHTLV-Iの多発地域であるが、最近日本で、HTLV-I感染に併発した特徴的なPMLの報告が数例なされたことから、HTLV-I 感染によってJCVの増殖が活性化された可能性が示唆された。そこで本研究第I章では、HTLV-I TaxがJCVの転写を活性化するか否かについて実験的に検討した。その結果、Taxは転写因子NF- κ B を介して、神経・グリア系細胞特異的にJCVを転写活性化することが明らかとなった。細胞特異性の原因として、非神経系細胞に存在するNF- κ BおよびTax結合蛋白の存在が示唆された。近年PMLは、AIDS随伴脳症として世界的に増加傾向にあるが、特に日本においては、HTLV-I感染もPML発症の危険因子になり得ることが示された。

JCV発現蛋白のひとつであるagnoproteinは後期蛋白転写領域の最上流に位置する71アミノ酸、分子量約8,000の蛋白であるが、その機能は未だ明らかでない。そこで本研究第II章では、JCV agnoproteinの機能解析を試みた。その結果、agnoproteinは核膜周囲を主とした細胞質に局在したが、N末端側に機能性の核移行シグナルと、核外移行シグナルを有していた。また agnoproteinは感染細胞内でリン酸化されていたが、リン酸化の有無と細胞内局在の関連性は認められなかった。遺伝子操作によって作製したagnoprotein欠損JCVは、その増殖が著しく遅延

したことから、agnoproteinがウイルスの転写に及ぼす影響について検討した。その結果、agnoproteinはJCV感染細胞内でウイルスDNAと結合していたが、ウイルス自身の転写活性化には関与しないことが示された。

以上の結果は、致死性感染症であるPMLの危険因子の予測や、治療法の開発に重要な知見である。よって審査員一同は、岡田由紀氏が博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。