

## 学位論文題名

マレック病ウイルスによる  
T細胞リンパ腫発症機序に関する研究

## 学位論文内容の要旨

マレック病 (MD) は、ヘルペスウイルス科に属するマレック病ウイルス (MDV) により引き起こされるニワトリの悪性Tリンパ腫である。本疾病はこれまでワクチンにより制御されてきたが、近年、ワクチン接種鶏においてもMDを発症する例が報告されており、MDVの強毒化が懸念されている。本研究では、マレック病 (MD) のリンパ腫発症機序の解明を目的として、マレック病ウイルス (MDV) がコードする発癌遺伝子 *meq* に着目し、その発現動態と機能の詳細を明らかにすることを試みた。まず第1章で、*meq* の新規スプライス産物  $\Delta meq$  を同定し、その詳細な発現動態と性状について解析した。次に第2章では、 $\Delta Meq$  のMDV溶解感染期における機能についての検討を行った。そして最後に第3章では、発癌初期における宿主の癌抑制因子p53に対するMeqや $\Delta Meq$ の関与について検討した。それぞれの詳細は以下の通りである。

1) MDV感染細胞において、*meq*あるいはL-*meq*の新規スプライス産物と考えられる $\Delta meq$ を同定した。この転写産物より発現する $\Delta Meq$ は、ロイシンジッパーの一部および転写活性化領域の大部分を欠損しており、MeqやL-Meqの転写活性化能を負に調節する因子として働く可能性が考えられた。MD由来腫瘍細胞株にアポトーシスを誘導したときに $\Delta Meq$ の発現が上昇すること、また $\Delta Meq$ はMeqおよびL-Meqに結合し、その機能を抑制することが示され、 $\Delta Meq$ によるMeqおよびL-Meqの機能抑制とその結果としてのアポトーシスへの関与が示唆された。

2) MD由来腫瘍細胞株に細胞溶解性感染を誘導したところ、 $\Delta meq$ の発現が上昇していた。また細胞溶解を起こしているMDV感染ニワトリ胎児線維芽細胞においても $\Delta meq$ の発現は上昇していた。さらにMDV強毒株感染鶏においても、観察期間を通じて $\Delta meq$ が検出されたことから、MeqやL-Meqの潜伏感染維持への関与に対しても、 $\Delta Meq$ が負の調節因子として働き、溶解感染の誘導に関与している可能性が考えられた。

3) Meqはp53に結合し、その機能を抑制することが示唆されているが、その機能抑制の分子機序として、MeqやL-Meqによるp53の発現量の低下が示された。この発現量の低下はプロテアソーム阻害剤の添加により回避できることから、MeqやL-Meqがプロテアソーム経路を介したp53の分解に関与することで発癌初期のp53不活化に働いている可能性が示唆された。 $\Delta Meq$ 自身はp53の分解には関与していなかった。

以上の成果より、MeqおよびL-Meqは宿主細胞内でp53の分解に関与し、種々の遺伝子の転写調節を通じてMDVの潜伏感染およびリンパ腫の発症に寄与していること、また、 $\Delta Meq$ はMDV感染細胞の細胞死や溶解感染への移行およびMDVの複製に関与していることが示唆され、そのメカニズムとしてMeqおよびL-Meqの機能抑制が考えられた。病態メカニズムの解明は、すなわち新たな疾病制御戦略の構築に役立つ。MDの病態発現機序に関して、依然として不明な点は多く残されているが、本研究はMDの病態進行の分子機構の一端を明らかにし、今後の本疾病の制御に有益な知見を提供したと考える。

# 学位論文審査の要旨

主 査 准教授 大 橋 和 彦  
副 査 教 授 高 島 郁 夫  
副 査 教 授 堀 内 基 広  
副 査 名誉教授 小 沼 操

学 位 論 文 題 名

## マレック病ウイルスによる T細胞リンパ腫発症機序に関する研究

マレック病ウイルス(MDV)は鶏に悪性T細胞リンパ腫を主徴とするマレック病(MD)を引き起こす。MDはワクチンにより制御されてきたが、近年、ワクチンブレイクが野外で報告されており、MDVの強毒化が懸念されている。そこで本研究では、MDVによるリンパ腫発症機序の解明を目的として、MDVがコードする発癌遺伝子 *meq* に着目して、*meq* の新規スプライス産物  $\Delta meq$  を同定し、その詳細な発現動態と性状および病態進行における機能について解析した。

最初に、MDV感染細胞において、*meq* あるいは L-*meq* の新規スプライス産物として  $\Delta meq$  を同定した。この転写産物がコードする  $\Delta Meq$  は、ロイシンジッパーや転写活性化領域の大部分を欠損しており、MD腫瘍由来細胞株にアポトーシスを誘導するとその発現が上昇することが示された。また  $\Delta Meq$  は *Meq* や L-*Meq* に結合し、その転写活性化能を抑制することが示され、 $\Delta Meq$  による *Meq* や L-*Meq* の機能抑制と、その結果としてのアポトーシスへの関与が示唆された。

細胞の腫瘍化やアポトーシスの制御には、癌抑制遺伝子産物である p53 の役割が重要であり、*Meq* は p53 に結合しその機能を抑制することが示唆されている。本研究では、その機能抑制機序として、*Meq* や L-*Meq* がプロテアソーム経路を介して p53 の分解を促進して発現量を低下させることが示された。しかし  $\Delta Meq$  は p53 の分解には関与していなかった。

次に MDV による細胞溶解性感染における  $\Delta meq$  の役割を検討した。細胞溶解性感染を誘導した MD 腫瘍由来細胞株や、MDV 感染鶏胎仔線維芽細胞で  $\Delta meq$  の発現が上昇し、MDV 強毒株感染鶏でも、観察期間を通じて  $\Delta meq$  が検出されることが判明した。以上より、 $\Delta Meq$  は *Meq* や L-*Meq* による潜伏感染維持に対しても、負の調節因子として溶解感染の誘導に関与する可能性が示された。

以上より、*Meq* および L-*Meq* は宿主細胞内で種々の遺伝子の転写調節を通じて MDV の潜伏感染およびリンパ腫の発症に寄与するが、 $\Delta Meq$  は *Meq* や L-*Meq* の機能抑制を通して MDV 感染細胞の細胞死や溶解感染への移行および MDV 複製に関与することが示された。

本研究により、MDV 発癌遺伝子である *meq* の新規転写産物 ( $\Delta meq$ ) が同定され、そ

の MD 病態進行における役割が明らかになった。よって、審査委員一同は、岡田宰君の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。