

研究課題別評価

1 研究課題: ウイルス潜伏感染機構の解明とその制御法確立の試み

2 研究者氏名: 上田 啓次

グループメンバー: 都 銀珠(研究期間: H14.4.1~H16.3.31)

木下 みさ(研究期間: H13.12.14~H16.11.30)

3 研究の狙い:

ウイルス潜伏感染はその存在によって生体に様々な影響をもたらす。それは特に移植や癌治療、或は他の病原微生物(特にヒト免疫不全症ウイルス: HIV)の感染によって引き起こされる免疫不全状態で時に重篤な病態となって現れる。ヒトγヘルペスウイルスはこの状態にあって種々の悪性腫瘍の発生に関わるとされ、その制御法の確立は重要な課題である。本研究ではヒトγヘルペスウイルスの一つであるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスをモデルとしてその潜伏感染のメカニズムを明らかにし、ウイルスを自在に制御するにはどのような分子を標的とすべきかを明らかにすることを目的とする。

4 研究成果:

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)の潜伏感染ではその遺伝子発現はごく一部の遺伝子に限られ、大部分の遺伝子はその発現が抑制されている。この機構に関し、LANA(latency associated nuclear antigen)がヘテロクロマチン化に関する宿主因子 Suv39H1 と相互作用し、ウイルスゲノムをヘテロクロマチン化することを示した。Suv39H1 はヒストン H3 のメチラーゼで特に9番目のリジンをメチル化することが知られている。このメチル化されたヒストンはヘテロクロマチン因子、HP1 によって認識され、HP1 がリクルートされる。HP1 はさらに Suv39H1 をリクルートすることによりヘテロクロマチン領域がゲノム全般に徐々に広がることが想定される。溶解複製(lytic replication)／再活性化において極めて重要なはたらきをするウイルス遺伝子 RTA(replication and transcription activator)の制御領域でも潜伏感染状態ではヘテロクロマチン化されていることを同時に示した。これは潜伏感染状態におけるウイルス遺伝子発現抑制維持機構をよく説明している。

ウイルスゲノムの末端には GC に富む末端反復配列(terminal repeat=TR)が存在する。潜伏感染ではこの部分は閉じられ、ウイルスゲノムは閉環状のプラスミド状態として存在している。そしてこの TR には潜伏感染の樹立・維持に必須の因子 LANA が結合している。つまり TR はそれ自体で或いは LANA との結合により、潜伏感染の樹立・維持に重要な機能を果たしていると考えられる。そこでこの TR に結合する因子の分離同定を試みた。その結果 TR 結合因子の一つとして宿主因子 PARP1 を分離した。この結合は LANA に非依存性であるが実際の感染細胞では近傍に LANA が結合しており、ADP-リボシル化されることが示された。また PARP1 の活性に影響する薬剤処理によって潜伏感染細胞内でのウイルスゲノムコピー数が調節されていることが示された(PARP1 の活性を上げるとコピー数は減少し、下げると増加する)。また宿主の複製因子である ORC などは LANA 依存性に TR に集合することを示した。このプロセスが潜伏感染時の細胞周期依存性のウイルスゲノム複製を遂行させるものと考えられる。

5 自己評価:

潜伏感染機構には未だ謎も多くそのすべてを解明した訳ではない。中間報告での評価も低くまた最終目標としては制御法の確立であったので目標に対しては 40~50%程度の達成率かと自己評価する。様々な理由(ここではいちいちそれに関して述べることは避ける)で思ったように研究

は進まなかったことは否めない。

制御法という観点では LANA の結晶解析を通じてのドラッグデザインを進めている。また LANA のノックダウン、PARP1 のノックダウンの実験が進行中である。そして今後の研究を進めるに当たっての材料の蓄積はかなり進んだと思う。今後の自らの研究の発展に期待したい。

6 研究総括の見解:

ヒトγヘルペスウイルスに属するカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスの潜伏感染のメカニズムを明らかにし、その制御を目指した研究である。潜在感染の樹立・維持に必須の因子である LANA がウイルスゲノムの末端に存在する GC に富む末端反復配列 (TR) に結合するのに関与する宿主因子 PARP1 を分離するなど、一定の成果を挙げた。しかしながら潜伏感染のメカニズムの本質を明らかにするには至っていない。今後 LANA や PARP1 の解析を進めることにより潜伏感染の機構とその制御を明らかにすることを期待する。

7 主な論文等:

論文

1. Eriko Ohsaki, Keiji Ueda, Shuhei Sakakibara, Eunju Do, Kaori Yada, Koichi Yamanishi. PARP1 (poly(ADP-ribose) polymerase 1) Binds with Kaposi's sarcoma-Associated Herpesvirus (KSHV) Terminal Repeat Sequence and Modulates KSHV Replication in Latency. *J. Virology*. in press
2. Nishimura, K., Ueda, K., Guwanan, Edihi, Shuhei Sakakibara, Eunju Do, Eriko Osaki, Kaori Yada, Toshiomi Okuno, Koichi Yamanishi. A Posttranscriptional Regulator of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Interacts with RNA-binding Protein PCBP1 and Controls Gene Expression through the IRES. *Virology* 325: 364-378, 2004.
3. Sakakibara, Shuhei, Keiji Ueda, Ken Nishimura, Eriko Ohsaki, Eunju De, Koichi Yamanishi. Accumulation of heterochromatin components on the terminal repeat sequence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus mediated by the latency-associated nuclear antigen. *J. Virology*. 78: 7299-7310, 2004.
4. Nishimura, K., Ueda, K., Sakakibara, S., Do, E., Ohsaki, E., Okuno, T., and Yamanishi, K. A Viral transcriptional activator of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) induces apoptosis, which is blocked in KSHV-infected cells. *Virology* 316: 64-74, 2003.

日本語総説

1. 上田啓次. カポジ肉腫とひとヘルペスウイルス 8. 秀潤社刊 *Visual Dermatology* 3: 164-167, 2004.
2. 上田啓次. エイズ流行で危惧されるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス感染と腫瘍発生. 最新医学社刊 *最新医学* 60(2): 252-259, 2005.

学会発表等

国内 4 件、国際学会 4 件