

〔課程-2〕

審査の結果の要旨

佐藤 由佳

本研究では単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) の効率的な増殖、ウイルス遺伝子発現に重要なウイルス因子 ICP0 に着目した。ICP0 は様々な複合体と相互作用することにより HSV-1 のクロマチンリモデリングを介した遺伝子発現を制御していると考えられている。HSV-1 の遺伝子発現は複数の宿主因子とウイルス因子の総合的な作用により制御されており、遺伝子発現制御に重要な宿主因子は他にも存在すると考えられた。そこで ICP0 と宿主因子で構成される複合体による HSV-1 遺伝子発現制御に関する新しい知見を得るために、ICP0 と相互作用する宿主因子の同定とその生物学的意義の解明を試みた。得られた結果は下記の通りである。

1. ICP0 と相互作用する宿主因子を質量解析により同定した。本研究では同定されたタンパク質の中の Ran-binding protein 10 (RanBP10) に着目した。RanBP10 は転写因子である Androgen receptor のリガンド依存的な転写活性化因子であることなどが知られているが、ウイルス感染における役割に関しては報告がない。HSV-1 感染細胞における免疫沈降および免疫蛍光抗体法により、RanBP10 は ICP0 と共沈降し、主に核内において ICP0 と共局在することが確認された。また HSV-1 の DNA 複製と転写が起こる場所であると言われている HSV replication compartment (RC) マーカーである ICP8 と共局在したことから、RanBP10 が ICP0 と HSV-1 RC において相互作用することが示唆された。
2. HSV-1 感染における RanBP10 の役割を解明するために RanBP10 mRNA の 3'-UTR 領域を標的とした shRNA を恒常的に発現する細胞である RanBP10 ノックダウン細胞及びノックダウン細胞に RanBP10 をレトロベクターで外因的に導入したレスキュー細胞を作製した。RanBP10 ノックダウン細胞においてコントロール細胞と比較して野生型 HSV-1 の増殖が約 10 倍低下し、レスキュー細胞においてコントロール細胞と同程度に増殖が回復することを確認した。この結果から RanBP10 が HSV-1 の効率的な増殖に重要であることが示唆された。また RanBP10 は ICP0 と相互作用しうることから ICP0 欠損ウイルスの増殖を検証したところ、RanBP10 ノックダウン細胞においてコントロール細胞やレスキュー細胞と比較して 100~1000 倍低下した。この結果から、ウイルス増殖における RanBP10 要求性が ICP0 欠損時に増加することが明らかとなった。さらに RanBP10 と ICP0 は互いの機能を補い合いながら協調的に働くことが考えられた。
3. ICP0 はウイルスの遺伝子発現を mRNA レベルで制御していると言われている。野生

型 HSV-1 感染時, RanBP10 ノックダウン細胞においてウイルス mRNA 及びタンパク質の発現量が低下しており, さらにその発現量の低下は ICP0 欠損ウイルス感染時に顕著だった. この結果から ICP0 と同様に RanBP10 も効率的なウイルスタンパク質及び mRNA 発現に重要であることが示唆され, RanBP10 が ICP0 と類似した機能を有すると考えられた.

4. ICP0 はウイルスゲノムのクロマチン構造を制御することにより効率的な遺伝子発現に関与していると言われている. ICP0 欠損時と同様に RanBP10 発現抑制時に HSV-1 ゲノムのプロモーター領域の histone occupancy が増加していた. さらに RanBP10 と ICP0 両因子を欠如させた場合に HSV-1 ゲノムのプロモーター領域の histone occupancy が顕著に増加しており, ウイルス遺伝子の転写が強く抑制された状態にあることがわかった. これらの結果から, 感染細胞において RanBP10 は ICP0 と同様にウイルスゲノムのクロマチン構造をリモデリングすることでウイルス遺伝子発現を mRNA レベルで制御し, 効率的なウイルス増殖に寄与していると考えられた.

以上, 本論文は HSV-1 感染細胞において RanBP10 が ICP0 と相互作用すること, 類似した機能を有すること, 協調的に働くことを明らかにした. RanBP10 の機能に関しては未だ不明な点が多いが, ウイルスを用いたことにより今回新たに RanBP10 がクロマチン動態制御能を有する可能性が示唆された. このようにウイルス因子と宿主因子の相互作用の解明は, ウイルス増殖全体像の理解だけでなく宿主因子の機能解明に重要な貢献をなすと考えられ, 学位の授与に値するものと考えられる.