

論文の内容の要旨

論文題目 単純ヘルペスウイルス 1 型の遺伝子発現に関する解析

佐藤 由佳

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) は約 150 kbp の直鎖状 2 本鎖 DNA をゲノムとして有する DNA ウイルスである。HSV-1 が細胞内に侵入しヌcleoカプシドが核膜孔に到達すると、ウイルス DNA が核内へと注入され環状化し、ウイルス遺伝子の転写が開始される。感染後最も早い時期に発現する infected cell protein 0 (ICP0) や ICP4 などの前初期タンパク質は、ウイルス DNA 複製や構造タンパク質の産生に必要なウイルスタンパク質の発現を制御することで効率的な HSV-1 増殖に寄与していると考えられている。細胞の DNA と同様に DNA ウイルスのゲノムもクロマチン制御を受けることが知られており、ICP0 がクロマチンリモデリングを介した HSV-1 ゲノムの転写抑制解除に重要であることが報告されている。

HSV-1 がコードする ICP0 は効率的なウイルス増殖、ウイルス遺伝子発現、潜伏感染からの再活性化など感染の様々な現象に関与することが知られている重要な多機能因子である。また ICP0 はこれまでに BMAL1/CLOCK 複合体、CoREST/REST/HDAC1/LSD1 repressor complex, Daxx/ATRX 複合体などと直接的もしくは間接的に相互作用し、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することが示唆されてきた。このように 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相互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る。そこで本研究では ICP0 と宿主因子の複合体による HSV-1 遺伝子発現制御に関する新しい知見を得ることを目的とした。質量解析により ICP0 と相互作用する

宿主因子 Ran-binding protein 10 (RanBP10) を同定し、その生物学的意義の解明を試みた。

RanBP10 は、Ran-binding protein M と複合体を形成し Androgen Receptor の転写活性を
増強することが報告されている。ICP0 は promiscuous な転写活性化因子で様々なウイルス因子や宿
主因子と複合体を形成して遺伝子発現を制御している。このように RanBP10 と ICP0 両因子の間に、
複合体を形成し転写を制御するという共通点が認められることから、RanBP10 が ICP0 の新たな相
互作用因子の候補として有力ではないかと考えた。まず感染細胞における ICP0 と RanBP10 の相互
作用を確認するために共免疫沈降と免疫蛍光抗体法を行った。RanBP10 は感染細胞において 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ことから、RanBP10 は ICP0
と HSV-1 感染細胞において相互作用することが示唆された。次に感染細胞における RanBP10 の役
割を解明するために RanBP10 発現抑制細胞を作製し、ウイルス増殖と遺伝子発現を観察した。既
報通り、ICP0 欠損ウイルス感染時にウイルス増殖の低下、ウイルス mRNA とタンパク質発現量の
減少、histone occupancy の増加が認められた。ICP0 欠損ウイルス感染時に認められた表現型と同様
に RanBP10 発現抑制時にウイルス増殖の低下、ウイルス遺伝子発現量の減少、histone occupancy
の増加が認められた。これらの結果は ICP0 と同様に RanBP10 が HSV-1 感染細胞においてクロマ
チンリモデリングを介した遺伝子発現制御に重要であることを示しており、RanBP10 が ICP0 と類
似した機能を有すると考えられた。さらにこれらの表現型は RanBP10 発現抑制細胞に ICP0 欠損ウ
イルスを感染させた際に野生型 HSV-1 感染時と比較して顕著だった。RanBP10 の単独抑制もしく
は ICP0 の単独欠損時と比較して両因子が欠如したときにウイルス遺伝子発現量が顕著に減少した
ことから、RanBP10 は ICP0 と互いの機能を補い合いながら協調して働いていることが示唆された。

本研究ではクロマチンリモデリングを介したウイルス遺伝子発現制御に関与する新た
な宿主因子 RanBP10 の存在を明らかにした。HSV-1 感染細胞において RanBP10 は ICP0 と相互作
用すること、類似した機能を有すること、協調的に働くことが示唆された。DNA methyltransferase

(DNMT) 1 と DNMT3b は類似した機能を有し、これら 2 つの因子が epigenetic repressor complex に含まれ、協調的にクロマチンリモデリングを制御するというモデルが提唱されている。このモデルと同様に、RanBP10 と ICP0 がウイルスのクロマチン構造と遺伝子発現を制御する複合体に含まれ、協調的に働いているというモデルが考えられた。このモデルを支持するものとして、ICP0 が様々なウイルス因子や宿主因子と相互作用することや、ICP0 が ICP4 や ICP27 と相互作用し協調的に働くことでウイルス遺伝子を活性化していることが知られている。また RanBP10 が宿主転写因子のコアクチベーターとして働くことが示唆されていることから、RanBP10 も ICP0 と同様にこの複合体の中に含まれる他のウイルス因子や宿主因子と協調してウイルスゲノムのクロマチン構造を制御する可能性が考えられた。また RanBP10 と ICP0 両方の欠如によりウイルス遺伝子発現抑制がより顕著になったのは、両因子の欠如によりウイルス遺伝子発現を制御している複合体全体の機能が減弱したことによると考えられた。