

沖縄古典型カポジ肉腫における KSHV vIRF2 遺伝子変異の 分子ウイルス学的解析

琉球大学 大学院医学研究科 ウイルス学講座 講師
渡部 匡史

【研究背景】

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)は、カポジ肉腫をはじめとした腫瘍の原因ウイルスである。KSHV は初感染後に、潜伏感染状態を終生に渡り維持することが多い。そのため、KSHV 感染のみを起因とする古典型カポジ肉腫の発生はまれである。国内では AIDS 発症による免疫機能低下時に合併する AIDS 関連カポジ肉腫が大多数である。しかし、琉球諸島とくに沖縄本島南西に位置する宮古島地域においては、感染者あたりのカポジ肉腫発症率が、本州と比較し約 100 倍であることが報告されている。さらに宮古島地域カポジ肉腫患者のウイルスゲノム解析により、遺伝子変異が新規に見いだされた (Anazawa R. *et al.*, *J. infect. Dis.*, 2017)。同時に患者の発がん関連遺伝子群も調査されたが、大きな差異は見いだされていない。

そのため、琉球諸島での古典型カポジ肉腫発症には、ウイルスそのものの病原性が関わっている可能性が高い。本研究では、アミノ酸置換変異が集積していたウイルス性遺伝子 vIRF2(viral Interferon Regulatory Factor-2)に焦点をあてた。細胞性 IRF 群は、ウイルスに対する自然免疫シグナル活性化の際、転写因子としてインターフェロン(IFN)産生や IFN シグナル活性化に寄与し、細胞を抗ウイルス状態にすることが知られている。KSHV は、細胞性 IRF と一程度の相同性を有する 4 種の vIRF をコードし、その一部は細胞性 IRF の機能を阻害することが知られている。vIRF2 も I 型 IFN シグナル経路や IFN- α 産生を阻害し、さらにはがん化促進やがん転移への関与も示唆されている。

【研究内容】

宮古島でのウイルスゲノム解析から、実験株と比して宮古島 vIRF2 コード領域でアミノ酸変異 6 点が確認されている。しかし、これらは既知の機能ドメイン上には存在せず、分子機能への影響は不明であった。よって野生型 vIRF2 と宮古島型 vIRF2 とで、細胞内シグナル伝達経路への影響を中心とした機能を比較し、生理的意義の解明を試みた。あわせて、アフリカ・ザンビアでのゲノム解析で観察された IRF2 中のリピート配列一部欠損 (Olp L.N. *et al.*, *J. Virol.*, 2015) についても検討した。実験株(strain JSC-1)由来配列を保持する野生型 vIRF2(vIRF2 WT)をもとに、宮古島型 vIRF2(vIRF2 MYKmut; E223G/V255M/G267V/T278A/L281G/F293L)、さらにザンビア型 vIRF2 を模した vIRF2 Δ R1 (Δ 328-385)および vIRF2 Δ R2 (Δ 386-443)、リピート配列自体の役割を明らか

にするためリピート欠損型 vIRF2 Δ R1R2 (Δ 328-443)を構築し、あわせて解析した。

【研究成果】

最初に定常状態, すなわち刺激非存在下での各種 vIRF2 の挙動を解析した. vIRF2 WT, vIRF2MYKmut をそれぞれ単独発現させ, IFN 誘導性遺伝子発現量や IFN 誘導性タンパク質 PML から構成される核内構造体 PML-Body の局在について検討したが, 顕著な差異はみとめられなかった. また vIRF2 による ISRE 配列および IFN- β プロモータ転写制御について, レポーターアッセイにより評価したところ, vIRF2 WT, vIRF2MYKmut, vIRF2 Δ R1, vIRF2 Δ R2 は転写活性化能を有していたが, vIRF2 Δ R1R2 は機能を消失していた.

次にシグナル活性化状況下, すなわち活性化因子やサイトカイン存在時の vIRF2 による IFN シグナル経路への影響を同様に検討した. vIRF2 WT, vIRF2 Δ R1, vIRF2 Δ R2 がほぼ同等にシグナルを顕著に抑制した. これらに比して vIRF2 MYKmut は同等ないしやや弱い抑制能を示した. vIRF2 Δ R1R2 ではさらに弱い抑制能が観察された. あわせて NF κ B シグナル経路についても検討したが, vIRF2 WT による顕著なシグナル抑制をみとめた. その他各種 vIRF2 についても IFN シグナルとほぼ同様の傾向が観察された.

以上より, 宮古島型 vIRF2 は過剰活性化した IFN シグナルを抑制しうる可能性があるが, さらなる精査が必要であると考え. 一方でザンビア型およびリピート欠損型 vIRF2 の解析から, vIRF2 中のリピート配列は少なくとも 1 つ存在することが, 分子機能的に重要であることが示唆された. また, vIRF2 が NF κ B シグナル経路に対して直接作用しうることを見出した.