

京都大学	博士（医学）	氏名	仲屋友喜
論文題目	Identification of novel endogenous betaretroviruses which are transcribed in the bovine placenta. (ウシ胎盤で発現する新規内在性レトロウイルスの同定)		
(論文内容の要旨) 外来性レトロウイルスの感染は、宿主細胞のゲノムに組み込まれることで成立する。祖先動物の生殖細胞に感染した外来性レトロウイルスは、メンデルの法則に基づいた遺伝という感染様式を用いて子孫に伝播され、内在性レトロウイルス(ERV)となる。種差はあるものの、ERV由来の配列は哺乳類のゲノムの約10%を占めることが明らかとなっており、進化に大きく寄与してきたことが示唆されている。多くのERVは変異や欠失によりオープンリーディングフレーム(ORF)を失っているが、一部のERVはORFを保持しており生理学的な機能を有することが知られている。その一つとして、胎盤形成に重要な役割を担うシンシチンが知られている。胎盤は子宮内で胎児を保持し、母体と胎児間におけるガス・栄養交換を行うほか、様々なステロイドおよびペプチドホルモンを産生し胎児の成長を促進する機能を有する。また、その由来は初期胚の外膜、すなわち栄養膜を構成する栄養膜細胞で、胚が子宮内膜へ着床後、胚の成長とともに栄養膜細胞が増殖・融合を繰り返しながら多核細胞を形成し拡大することで形成される。その細胞融合の過程において、中心的な役割を担うタンパクがシンシチンである。シンシチンはERVのエンベロップ(遺伝子; <i>env</i> 、タンパク; <i>Env</i>)に由来するタンパクで、現在までにヒトやマウス、ウサギにおいてそれぞれ固有のシンシチンが同定されている。ウシを含む反芻動物の胎盤には、形態学的にはヒトやマウスとは異なるが、細胞融合により形成されたと考えられる三核、またはそれ以上の多核細胞が存在する。しかしながら、シンシチン様の遺伝子は同定されていない。そこで本研究では、ウシ胎盤で機能する固有のシンシチン様遺伝子を同定すべく実験を行った。 まず、既知レトロウイルスの <i>Env</i> 配列との比較により、ウシゲノムデータベースから ERV の抽出を行ったところ、 <i>Env</i> が保存された 2 つの ERV を同定し、それぞれを BERV-K1 および-K2 と命名した。 <i>Env</i> 配列を用いた系統樹解析により、両 BERV はベータレトロウイルスに属することを確認した。さらに、両 <i>Env</i> は細胞融合に重要であると考えられるモチーフを有することが明らかとなった。次に、リアルタイム RT-PCR によって、ウシの各組織における両 <i>env</i> の発現量を確認したところ、BERV-K2 がわずかであったのに対し、BERV-K1 は胎盤で特異的に高い発現を示した。加えて、本研究では両 <i>env</i> のスプライシングによって産生される遺伝子を同定し、それぞれを REBK1 および REBK2 と命名した。ルシフェラーゼレポーター遺伝子を用いた解析により、両 REBK タンパクは <i>env</i> 転写産物の核外輸送を効率的に行うために必要であることが示唆された。本研究により、両 BERV-K <i>env</i> 遺伝子が生理学的な作用を担うこと、さらに BERV-K1 <i>Env</i> タンパクが胎盤において栄養膜細胞の分化に必要な細胞融合能を担うことが示唆された。本研究の成果は、ウシ胎盤の発生のみならず、比較によりヒトの発生過程を明らかにする上で医学的、獣医学的、および進化学的に大変意義深い。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、ウシ胎盤における母子間融合細胞形成機構の中心的役割を担う分子を特定すべく、ウシ胎盤で発現する内在性レトロウイルス(ERV)由来エンベロップ遺伝子(*env*)を同定するとともに、その発現制御に関わる *env* mRNA の核外輸送機構を明らかにしたものである。まず、ヒツジ胎盤で発現する enJSRV *env* と相同性の高いウシゲノム上の配列を解析プログラムである TBLASTN を用いて検索し、エンベロップタンパク(*Env*)のコーディングフレームを保存する BERV-K1 と BERV-K2 を見出した。BERV-K1、-K2 *Env* はともに、細胞融合に重要なアミノ酸モチーフを有し、実際にその融合活性を証明した。全身臓器のリアルタイム RT-PCR 解析の結果、BERV-K1 *env* mRNA の発現は胎盤できわめて高レベルであったのに対し、BERV-K2 *env* のそれは全身臓器で低いレベルであった。さらに、BERV-K1、-K2 *env* から選択的スプライシングにより発現するウイルス性 RNA 核外輸送分子を同定し、それぞれ REBK1、REBK2 と命名した。加えて、両 BERV-K の 3'LTR RNA 上には、RNA 核外輸送に関わる CTE 配列が存在し、各々の REBK タンパクと CTE 配列が共役することで、*env* mRNA の核外輸送を効率化し、*Env* の発現を促進することが強く示唆された。

以上の研究は、ヒトとは異なるウシの胎盤形成過程において、非常に重要なプロセスの一つである母子間での細胞融合に関わる分子機構の解明、ならびに、動物種間における胎盤の多様性と ERV の関係性を明らかにする上で、大きく寄与するものである。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位申請者は、平成23年6月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降