

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	梶谷 直子
論文題目	ヒトパピローマウイルス 18 型 E1 ^{E4} 遺伝子産物の新規機能に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>Human papillomavirus (HPV)は重層上皮組織特異的に感染し、上皮組織に疣贅などの良性腫瘍を引き起こすとともに、長期にわたる持続感染は悪性腫瘍を誘発する。HPV 感染における標的細胞は重層上皮組織最下層に存在する基底細胞であり、一方子孫ウイルスの放出は組織表層の最も分化の進んだ角質層で行われる。感染から子孫ウイルス産生に至るウイルス生活環の進行には宿主細胞の分化が必要であり、感染細胞の分化段階に応じてウイルス性因子と宿主側因子の密接なクロストークが起こると考えられている。そのため HPV の生活環を理解する上では、ウイルス性因子が結合する宿主側因子の同定とそれに基づく細胞応答の実証が重要である。本論文は HPV ウイルスタンパク質の一つである E1^{E4} タンパク質に焦点をあて、その機能を解明することを目的とした。</p> <p>申請者は HPV18 E1^{E4} をベイト(bait)とした yeast two-hybrid 法により E1^{E4} の新規相互作用因子としてビメンチンを同定し、両者の相互作用を免疫沈降法により生化学的に実証した。また E1^{E4} を遺伝子導入により HPV 陰性サル腎上皮細胞株に高発現させると、細胞質内にビメンチンに取り囲まれた凝集体を形成することを発見した。その凝集体には代表的なアグリソーム (aggresome) 構成因子である HDAC6、Hsp40、p62 やユビキチン化されたタンパク質が共局在することを明らかにし、この凝集体が機能性を有するアグリソーム様の構造体であることを示した。またダイニン阻害剤である ciliobrevin D で処理した上皮細胞においてアグリソーム形成が強く阻害されたことから微小管に沿ったダイニン依存的な輸送経路の存在が示唆された。更に、E1^{E4} 発現あるいは非発現サル腎上皮細胞株における他の HPV ウイルスタンパク質の発現量をウェスタンブロットにより比較検討した結果、E1^{E4} 凝集体形成によりウイルスの癌関連タンパク質である E6 及び E7 の発現が抑制されることを見いだした。また E7 による RB タンパク質の分解機能、及び角化細胞の分化阻害作用に対して、E1^{E4} 凝集体の形成は抑制的に機能することを示した。</p> <p>E1^{E4} は感染組織の表層部の表層部で強く発現し凝集体を形成することが知られている。今回得られた知見から、感染組織表層部で形成される E1^{E4} 凝集体が E6 及び E7 の細胞分化抑制機能を阻止することで、感染細胞の最終分化を促し、子孫ウイルスの産生を促進している可能性が想定された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文はhuman papillomavirus (HPV)がコードする遺伝子産物のひとつであるE1^{E4}タンパク質の機能解析を行ったものである。HPV感染症、及び子宮頸癌などHPV関連癌への対策を考えるためには、HPV複製制御機構の理解が重要であり、ウイルス性因子の機能解明が必須である。しかしながら、これまでHPV複製に関与すると考えられているE1^{E4}タンパク質の生物機能に関してはほとんど情報がなかった。その点で、本論文の研究目的はHPV複製制御を理解する上で意義のあるものと考えられる。

本論文では、E1^{E4}が中間径フィラメントであるビメンチンと相互作用していることを示した。また、E1^{E4}の作用により細胞質内に形成される凝集体が、ビメンチンに囲まれたアグリソーム様の構造を有していることを明らかにした。さらに、E1^{E4}が形成する凝集体にアグリソーム関連因子が局在することも示している。アグリソームは、プロテアソームで処理できなかつた変性タンパク質を微小管形成中心(MTOC)近傍に集めることで形成される。いくつかのウイルスではアグリソームを複製やウイルス粒子形成の場として利用していることが知られているが、HPVでは初めての発見である。本研究では、E1^{E4}凝集体がHPVの遺伝子産物で癌関連因子であるE6/E7を取り込み、その機能を抑制する可能性も見出している。実際にE7を発現する細胞でE1^{E4}凝集体を形成させるとRBタンパク質の量が増加した。本発見は、E1^{E4}産物による感染細胞の分化抑制効果の制御が可能になることを示しており、HPVによる癌化の制御を考える上でも極めて貴重な結果である。

E6/E7は細胞の分化を抑制し、HPVの複製を促進する。しかし、ウイルスの産生的複製には宿主細胞の終末分化が必要となる。本論文では、E1^{E4}凝集体が感染組織の上層部で形成され、E6/E7を取り込むことでそれらの機能を抑制することでウイルスの産生的複製を誘導するという全く新しいモデルを提案したことにも意義がある。

以上の成果は、E1^{E4}によるHPV複製制御と癌化の理解に関して極めて重要な知見を与えるものである。従って本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成25年11月13日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日