

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Functional analysis of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus-encoded large T antigen

トリコディスプレジア・スピヌローザ関連ポリオーマウイルス T 抗原の
機能解析

日本医科大学大学院医学研究科 皮膚粘膜病態学分野
大学院生 奈古 利恵

Japanese Journal of Infectious Diseases 掲載予定

DOI: 10.7883/yoken.JJID.2019.391

Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus (TSPyV) は 2010 年に Trichodysplasia spinulosa (TS)より発見されたポリオーマウイルスである。TS は棘状毛孔性丘疹を特徴とするまれな皮膚疾患で、免疫不全者の顔面に好発するが、TSPyV の病原性については不明な点が多い。TSPyV は二本鎖 DNA ウイルスであり、早期タンパクである large T (LT)、middle T、small T 抗原などをコードしている。LT は他のポリオーマウイルスにおいて、腫瘍化の責任分子と考えられている。そこで、申請者らは TSPyV の LT 抗原の機能と病原性を解明することにした。

TSPyV LT の DNA を発現ベクターにクローニングし、293 細胞に遺伝子導入することにより LT の cDNA 配列を得た。LT の cDNA を HeLa 細胞に GFP 融合タンパクとして遺伝子導入し、LT の細胞内局在を蛍光顕微鏡で観察した。また、昆虫細胞を用いて組換え LT タンパクを合成、精製し、ATPase 活性を測定した。タンパク間の相互作用は免疫沈降法で、足場非依存的増殖能の評価は軟寒天培地の二層培養法で検討した。

TSPyV の LT をコードする DNA から既報告の全長 cDNA と 2 つの splicing variant の cDNA を同定した。全長 LT cDNA を遺伝子導入した細胞では LT は核内に発現し、欠失変異体の解析により、DNA junction と origin binding domain の間に核移行シグナルを同定した。組換え LT タンパクは ATPase 活性を示し、ウイルス複製への関与が示唆された。免疫沈降法では、TSPyV LT は Rb1 と結合するが、P53 とはほとんど結合しなかった。NIH3T3 細胞に TSPyV LT を遺伝子導入すると、軟寒天培地内でコロニーの形成が見られた。

TSPyV LT の核内発現、核移行シグナルの保持、ATPase 活性、癌抑制因子である Rb1 との結合などは他のポリオーマウイルスの LT にも見られる特徴である。コロニー形成実験からは、哺乳類細胞における TSPyV LT の形質転換能が示され、これは TSPyV LT が TS にお

ける内毛根鞘の過形成と関連する可能性を示唆した。一方で TSPyV LT は P53 と結合しないことから、TSPyV LT における形質転換能には Rb1 が主に関与していると考えられた。

第二次審査では、①TSPyV の感染経路と感染細胞、②TSPyV LT の発癌能、③TS が顔面に好発する理由、④今後の研究の方向性、などに関して質疑がなされ、それぞれに対して的確な回答が得られ、本研究に関する知識を十分に有していることが示された。

本研究は TSPyV LT の機能の詳細を明らかにした初めての報告であり、その臨床的意義は高いと考えられた。以上より本論文は学位論文として価値あるものと認定した。