

平成21年1月

# Afiono Agung Prasetyo 学位論文審査要旨

主 査 景 山 誠 二  
副主査 福 本 宗 嗣  
同 清 水 英 治

## 主論文

Replication of chicken anemia virus (CAV) requires apoptin and is complemented by VP3 of human torque teno virus (TTV)

(ニワトリ貧血ウイルスの複製は、アポプチンを必要としTTVのVP3で補完される)

(著者：Afiono Agung Prasetyo、釜洞俊雄、黒石歩、村上恭子、日野茂男)

平成21年 Virology 掲載予定

# 学 位 論 文 要 旨

## Replication of chicken anemia virus (CAV) requires apoptin and is complemented by VP3 of human torque teno virus (TTV)

(ニワトリ貧血ウイルスの複製は、アポプチンを必要としTTVのVP3で補完される)

torque teno virus (TTV)は、肝炎患者から分離された比較的新しいウイルスであるが、肝炎発症との因果関係は十分に解明されていない。また、その他の疾患との関連も疑われている。このように病因論の解明が必要でありながら、培養が難しいため、TTV増殖に伴う病原性の研究は困難な状況である。そのため、本研究では、TTVの病原性解析モデルとしてニワトリ貧血ウイルスに着目した。ニワトリ貧血ウイルスは、TTVと同様にCircovirus科に属し培養可能なウイルスである。特に、双方のウイルスのVP3遺伝子産物、すなわち、TTV-VP3とアポプチンに注目し、両者の機能的な類似点を検討した。

## 方 法

第一に、ニワトリ貧血ウイルスの増殖へのアポプチンの関与を検討するため、アポプチンをノックアウトしたウイルスを作成し、一方で、アポプチンとアポプチンノックアウトウイルスを共に発現させることにより、ウイルス増殖能が回復するか否かについて検討した。次に、アポプチンの核移行シグナルとして不可欠な部位を特定するため、それぞれ10-36、31-59、59-88、80-112の位置のアミノ酸を欠失させた4種類、さらに、アポプチンの108番目のスレオニンをイソロイシンに置換したアポプチン、合計5種類のアポプチンを合成し、それぞれの核における局在の程度を測定し、併せて、これら5種類の合成アポプチンとアポプチンノックアウトウイルスを細胞内で共発現することにより、アポプチンの欠失部位がウイルス増殖に与える影響を検討した。最後に、TTVのTTV-VP3によるアポプチン補完機能を検討するため、TTV-VP3蛋白とノックアウトしたニワトリ貧血ウイルスを細胞内で共発現させた。

## 結 果

アポプチンをノックアウトしたニワトリ貧血ウイルスは増殖能を完全に失ったが、このノックアウトウイルスの機能は、アポプチンの共発現、また、TTV-VP3の共発現で回復した。共発現によって補完され産生された粒子は、感染粒子とほぼ同じ比重を示すが、感染性の

ないウイルス粒子であった。

ニワトリ貧血ウイルスの増殖機能は、アポプチンの108番目のスレオニンをイソロイシンに置換した場合に低下し、108番目のアミノ酸のリン酸化が増殖に重要な要素であることを示唆していた。この108番目のスレオニンをイソロイシンに置換したアポプチンは核に局在する能力が低下しており、この性質がウイルス増殖に影響を与える要因のひとつとして考えられた。リン酸化部位以外にも、アミノ酸番号59-88、80-112の部位を欠失させた場合、アポプチンは核への移行能力が低下し、アポプチンノックアウトウイルスの増殖機能を回復させるレベルも著しく低下した。10-36、31-59の位置を欠失させたアポプチンは、充分量が核に局在したため、アポプチンの核への移行には、C末端の機能がより重要であることが示唆された。

## 考 察

この研究は、アポプチンがニワトリ貧血ウイルスの増殖に不可欠であること、また、アポプチンのリン酸化が、このウイルスの増殖に不可欠であることを示している。さらに、リン酸化部位を含むアポプチンC末端側にある核移行シグナル機能が、ウイルス増殖に重要な要素であることを示唆している。特筆すべきは、アポプチンの機能はTTV-VP3で補完されることであり、TTVとニワトリ貧血ウイルスの機能の類似性を一層裏付ける結果となった。

## 結 論

アポプチンはニワトリ貧血ウイルスの増殖に必須であることが明らかになり、さらに、双方のVP3遺伝子（アポプチンとTTV-VP3）の機能解析により、TTVとニワトリ貧血ウイルスは機能面で類似していることが示された。ニワトリ貧血ウイルス増殖系は、細胞培養系がなく病因論の展開に難渋しているTTV研究の有用な実験モデルになるものと思われる。