

平成21年 3月

川口亜佐子 学位論文審査要旨

主 査 景 山 誠 二
副主査 西 連 寺 剛
同 井 上 幸 次

主論文

The evolution of Epstein-Barr virus inferred from the conservation and mutation of the virus glycoprotein gp350/220 gene

(ウイルス膜糖タンパク gp350/220 遺伝子の保存性と変異から推論される Epstein-Barr ウイルスの進化)

(著者：川口亜佐子、金井亨輔、佐藤幸夫、唐下千寿、長田佳子、西連寺剛、井上幸次)

平成21年 Virus Genes 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

The evolution of Epstein-Barr virus inferred from the conservation and mutation of the virus glycoprotein gp350/220 gene

(ウイルス膜糖タンパク gp350/220 遺伝子の保存性と変異から推論される Epstein-Barr ウイルスの進化)

Epstein-Barr virus (EBウイルス:EBV) は様々な疾患への関与が知られている一方で、大部分のヒトに不顕性感染している。EBV DNA塩基配列の多様性は種々の遺伝子領域において報告があり、latent membrane protein 1 (LMP1) および viral IL-10の塩基配列は人種・地域依存的な多様性が報告されている。本研究ではEBVのB-リンパ球への感染成立において重要なEBVエンベロープ蛋白質をコードするgp350/220遺伝子の塩基配列の多様性について解析し、さらにLMP1などの他の領域の多様性とEBVタイプとの関連について比較検討した。

方 法

各種EBV感染細胞株 (B95-8、P3HR-1、Jijoye、Raji、Akata、Daudi、OB、EB1、Namalwa、NPC-KT、SNU-719)、日本人のEBV関連胃癌組織、健常人およびぶどう膜炎患者の末梢血単核球、健常人のうがい液からDNAを抽出し、gp350/220 遺伝子のN末端領域を主体にnested PCR法により増幅した。このPCR産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法で解析した。B95-8 EBV DNAを基準としてEBV間での差異のデータをもとに近隣結合法を用いて系統樹を作成し、各EBVにおける変異状態を検討した。また、nested PCR法を用いて各検体のEBV核抗原2 (EBV nuclear antigen 2:EBNA2) 領域をPCR産物の違いにより既報のEBVのタイプ (type Aとtype B) に分類した。さらにLMP1 C末端領域の変異状態について検討し、EBVタイプとEBV進化との関連性について検討した。

結 果

EBV感染細胞株のEBVでは、gp350/220のN末端領域は高く保存されていたが、JijoyeとP3HR-1 EBVは他のものと明らかに異なる変異パターンを示した。前者を type a、後者を type bと命名した。EBNA2領域によるEBVタイプ (type Aとtype B) と比較したところ、type aとtype A、type bとtype Bは完全に一致した。ほとんどの日本人由来の細胞株及び臨床検体からのEBVは大多数がtype A/aであり、type B/bは2つの臨床検体のみであった。日本人

EBVでは特徴的なgp350/220の変異が存在したが、疾患別におけるEBVの違いは認められなかった。これまでEBVタイプはEBNA2、LMP1による分類がなされており、gp350/220のN末端領域の変異の間に関連は知られていなかったが、日本人のEBVの大多数がtype A/a-China1で、2つの検体のみtype B/bでMedとChina2という日本人には稀な変異パターンを示した。gp350/220遺伝子のC末端領域は、N末端領域と比べてより多くの変異がみられたが、type A/aとtype B/bに分類される特徴的な変異パターンはみられなかった。

考 察

gp350/220遺伝子のN末端領域の変異はtype aとtype bと明瞭な違いがみられ、その変異はEBNA2によるEBVタイプの分類と一致することが明らかとなった。N末端領域はBリンパ球に対する結合部位を持つことが知られており、同部位の変異はEBV感染にとって致命的であり、変異がないEBVのみが選択される可能性が示唆された。日本人由来のEBVはtype A/aが大部分を占め、type B/bは稀であった。EBNA2遺伝子に基づくEBVタイプの分類は、LMP1によるEBVの分類と無関係であると思われていたが、LMP1でのChina1はtype A/aであり、type B/bのEBVは日本人には稀なMedとChina2であることが判明した。gp350/220のN末端領域とEBNA2遺伝子による分類、LMP1遺伝子による分類、さらにgp350/220のC末端領域の変異に基づく系統樹解析から、EBVは最初にtype A/aとtype B/bに分岐し、次に人類の移動と共に地域特異的に進化を遂げた可能性が明らかとなった。

結 論

EBV感染細胞株と臨床検体からのEBVのgp350/220、LMP1及びEBNA2遺伝子変異について解析し、EBVの進化を考察した。EBVは、type A/aとtype B/bに分かれ、その後人種・地域特異的に変異・進化した可能性が示唆された。gp350/220遺伝子のN末端領域の高い保存性はEBV感染に対するワクチン開発などの予防戦略につながる可能性を示す。