

201319002A

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業 平成25年度 総括・分担研究報告書

エイズ患者における
カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスが原因となる疾患の
発症機構の解明と予防
および治療法に関する研究

研究代表者 片野 晴隆 平成26(2014)年3月

国立感染症研究所感染病理部

平成 25 年度
厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業

エイズ患者における
カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスが原因となる疾患の
発症機構の解明と予防
および治療法に関する研究
－平成 25 年度 総括・分担研究報告書－

研究代表者 片野 晴隆

平成 26(2014) 年 3 月

研究代表者

片野晴隆

国立感染症研究所感染病理部 室長

研究分担者

上田啓次

大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授

藤室雅弘

京都薬科大学薬学部細胞生物学分野 教授

今村顕史

がん・感染症センター都立駒込病院感染症科 医長

照屋勝治

国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター 病棟医長

上平朝子

国立病院機構大阪医療センター感染症内科 科長

研究協力者

上原妙子、坂本康太、福本 瞳、佐藤由子、長谷川秀樹

国立感染症研究所感染病理部

関塚剛史、黒田 誠

国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター

大崎恵理子、鄭 鑫

大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学

加藤博史

がん・感染症センター都立駒込病院感染症科

柳川泰昭

国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター

永田尚義

国立国際医療研究センター消化器内科

渡邊 大

国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター

矢嶋敬史郎

国立病院機構大阪医療センター感染症内科

総括研究報告書.....	7
エイズ患者におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスが原因となる疾患の発症機構の解明と予防 および治療法に関する研究	8
研究代表者 片野晴隆 国立感染症研究所感染病理部 室長	
研究分担者 上田啓次 大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授	
藤室雅弘 京都薬科大学薬学部細胞生物学分野 教授	
今村顕史 がん・感染症センター都立駒込病院感染症科 医長	
照屋勝治 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター 病棟医長	
上平朝子 国立病院機構大阪医療センター感染症内科 科長	
分担研究報告書.....	13
新規予防薬の開発.....	14
研究分担者 片野晴隆 国立感染症研究所感染病理部 室長	
研究協力者 上原妙子、坂本康太、福本 瞳、佐藤由子、長谷川秀樹	
国立感染症研究所感染病理部	
関塚剛史、黒田 誠 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター	
KSHV の潜伏感染、再活性化機構と KSHV に起因する病態発症機構の解明	18
研究分担者 上田啓次 大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授	
研究協力者 大崎恵理子、鄭 鑫 大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学	
新規治療薬の開発（抗 PEL 化合物および抗 KSHV 化合物の開発）	22
研究分担者 藤室雅弘 京都薬科大学薬学部細胞生物学分野 教授	
HIV 関連カポジ肉腫の臨床像と治療方針に関する検討.....	30
研究分担者 今村顕史 がん・感染症センター都立駒込病院感染症科 医長	
研究協力者 加藤博史 がん・感染症センター都立駒込病院感染症科	
HHV-8 感染症の病態と治療	34
研究分担者 照屋勝治 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター 病棟医長	
研究協力者 柳川泰昭 国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター	
永田尚義 国立国際医療研究センター消化器内科	
カポジ肉腫の現状把握および HHV-8 の抗体保有率の検討	38
研究分担者 上平朝子 国立病院機構大阪医療センター感染症内科 科長	
研究協力者 渡邊 大 国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター	
矢嶋敬史郎 国立病院機構大阪医療センター感染症内科	
刊行物一覧.....	45

総括研究報告書

エイズ患者におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスが原因となる疾患の発症機構の解明と予防 および治療法に関する研究

研究代表者	片野晴隆	国立感染症研究所感染病理部 室長
研究分担者	上田啓次	大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授
	藤室雅弘	京都薬科大学薬学部細胞生物学分野 教授
	今村顕史	がん・感染症センター都立駒込病院感染症科 医長
	照屋勝治	国立国際医療研究センター・エイズ治療・研究開発センター 病棟医長
	上平朝子	国立病院機構大阪医療センター感染症内科 科長

研究要旨

2000 年以降、日本で増加傾向の見られるカポジ肉腫について、原因ウイルスであるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV または HHV-8) による発症機構の解明と治療、予防法の開発、KSHV 感染症の現状把握と適切な治療法の普及を目標とした。今年度の研究成果として、1. miRNA の発現プロファイルから KSHV 関連疾患に高発現する miRNA を同定したこと、2. PEL 細胞の細胞死を誘導する薬剤を同定したこと、3. LANA による KSHV 複製機構の解明を行ったこと、4. KSHV 関連疾患の臨床例の検討を行い、ガイドラインの根拠となる臨床的事実を挙げたこと、5. 血清中抗 KSHV 抗体の動態を検索したこと 6. 「診断と治療の手引き」第 2 版を作成したこと、などがあげられる。KSHV の感染、複製メカニズムに迫る基礎的研究の成果が得られ、「診断と治療の手引き」の普及は、広く患者の利益となることが期待される。

A. 研究目的

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi sarcoma associated herpesvirus, KSHV, または Human herpesvirus 8, HHV-8) はカポジ肉腫の原因ウイルスと言われ、多巣性キャッスルマン病 (multicentric Castleman disease, MCD) や primary effusion lymphoma (PEL) などの一部のリンパ腫の発症と関連する。これらの KSHV 関連疾患はエイズ患者では同性愛男性 (men who sex with men, MSM) に限定して発症する。日本の新規 HIV 感染者の 7 割が MSM であり、この数年で KSHV 関連疾患は増加傾向にある。日本のエイズ患者におけるカポジ肉腫の発症率は 2000 年頃には 2-3% であったが、その後、増加し、現在では 6% 程度、実数にすると 3 倍以上になっており (平成 24 年度安岡班報告書)、カポジ肉腫への対策は急務である。抗レトロウイルス療法 (Anti-retroviral therapy, ART) 後の免疫再構築と関連して発症する例も存在する。皮膚カポジ肉腫の予後はよいが、肺や消化管などの深部臓器に発

症した症例は治療困難である。治療は ART に化学療法 (ドキシル) を併用する方法が標準化されつつあるが、日本以外の先進国ではカポジ肉腫は減少傾向にあり、現在のところ、ART を考慮した国際的な病期分類や治療ガイドラインはない。そこで、本研究では、現在、増加しているカポジ肉腫・KSHV 感染症について、正確な実態を把握した上で、適切な治療法を検討し、その結果を「手引き」として提示すること、および、KSHV 関連疾患の発症機構を解明し、ワクチンを含めたカポジ肉腫の新規予防・発症予知法を開発することを目的とする。

昨年度に当班では「診断と治療の手引き」を作成し、全国のエイズ拠点病院に配布した。しかし、症例数の少ない施設では、診断、治療の支援が必要である。難症例、特にドキシル耐性のカポジ肉腫症例や、MCD、PEL などの治療はどの施設でも困難であり、今後も適切な治療法を検討していく必要がある。

日本のMSMの間でもKSHVの感染率は高い(Katano H, et al. J Med Virol 2013)。カポジ肉腫は危険因子(MSM)がはっきりしており、早期の治療が功を奏する疾患であるだけに、有効なワクチンや発症予測法、効果的な新規予防・治療法の開発が望まれる。しかし、KSHVの感染機構には不明な点が多く、感染機構の基礎研究から、同性愛者間で感染率が高い理由や感染経路などについて明らかにしていく必要がある。カポジ肉腫もKSHV関連リンパ腫も、KSHVの潜伏感染による疾患であり、潜伏感染の機構を解明することはワクチンの開発や、発癌機構、再活性化による疾患(MCDなど)の発症機構の解明にも必須であり、分子標的が定まれば、新薬の開発や、ウイルス発癌共通の知見が発見される可能性がある。

B. 研究方法

ウイルスはKSHV、green fluorescence protein (GFP) 発現組換えKSHVを用いた。また、KSHV感染細胞として、TY-1, BCBL-1などを用いた。感染細胞の同定はlatency-associated nuclear antigen 1 (LANA-1)に対する免疫染色、またはフローサイトメトリーを用いた。ウイルスタンパクの検出はウエスタンブロット、フローサイトメトリーなどの方法を各分担研究の中で目的に応じて使用した。HIV感染者の血清中の抗KSHV抗体価は抗KSHV抗体検出用ELISA kit (Advanced Biotechnologies Inc)を用いて測定した。KSHV関連疾患の臨床的解析は、病変部位、検査所見、治療方針や経過などを、診療録から後方視的に調査した。

(倫理面への配慮)

ヒト検体を用いた研究は当該施設の研究倫理委員会の承認を得て行われた。遺伝子組換え等の実験に関しては当該研究施設の遺伝子組換え実験委員会の承認を得た上で実験を行った。蛍光色素を発現するウイルスはDNA組換えウイルスであり、使用に当たり、大臣確認を得た。

C. 研究結果

(1) KSHV 関連疾患の発症機構の解明

KSHVの潜伏感染タンパクであるLANAのDNA結合ドメイン(LANA-DBD)が、宿主核マトリックス因子NuMAとキメラ化し、核マトリックスへ局在することで、LANA-DBDのみより著しく効率の良い複製能を獲得することが示された。このことは核マトリックスが潜伏感染におけるウイルス

ゲノム複製の場として極めて重要であることを裏付ける結果である。また、KSHV潜伏感染PEL細胞株で発現亢進している宿主遺伝子、angiopoietin-1の発現制御機構に関わる約30bpの責任領域を同定した。(上田)

近年、宿主、あるいは、ウイルスがコードするmicroRNA(miRNA)が発癌に重要とされることから、KSHV関連疾患の病理組織におけるヒトmiRNAを含めた全miRNAの発現を次世代シーケンサーにより解析した。その結果、ウイルスのmiRNAではmiRK4の発現が高いこと、宿主のmiRNAではmiR-143がKSHV関連疾患で高発現していることが明らかになった。(片野)

(2) 新規予防・発症予知法の開発

昨年度、核酸誘導体のサンギバマイシンがPEL細胞内のErkシグナル伝達を阻害し、PELにアポトーシスを誘導することを見出した。本年度の研究により、サンギバマイシンはHSP90阻害剤(ゲルダナマイシン)やバルプロ酸との同時投与により、より低濃度でPEL細胞に対して殺細胞活性を発揮することを見出した。また、ピロリジニウム型フラレンは、PEL細胞内のAktとErkシグナル、またCaspase9のリン酸化と活性化を阻害することでPELに対して細胞増殖抑制を示すことを見出した。さらに、本年度実施した抗PEL化合物スクリーニングにより、ニンニクの新芽由来のフィトケミカルであるジアリルトリスルフィド(Diallyl trisulfide)がPEL細胞特異的な細胞増殖抑制効果を有していることも見出した。(藤室)

(3) カポジ肉腫・KSHV感染症の現状把握

実際に経験されたカポジ肉腫を詳細に調査することによって、化学療法の適応や終了時期、難治症例における治療方針などについての検討を行った。その結果、顔面や四肢に浮腫を伴う集簇した皮膚病変、肺病変や気道病変、広範囲で進行が急速な消化器病変、鼠径部の集簇したリンパ節病変、そして喉頭部の病変などにおいて、化学療法の開始が必要となることがわかった。喉頭蓋病変を伴う重症例、ART後に免疫再構築症候群として病変が増悪する例、あるいはリポゾーマルドキソルピシン(PLD)無効例など、難治例における治療方針についてもまとめた。(今村)

自施設のカポジ肉腫症例について、死亡をprimary outcomeとした最適な化学療法(PLD)の投与回数についての臨床的検討を行った。108例のカポジ肉腫症例の臨床的検討を行った結果、カポジ肉腫症例の多くが診断時にはすでに重度の免

疫不全状態であり、その後に発症した日和見疾患の数が有意に予後と関連し、PLD 治療と予後との関連は見られなかった。これは、現在の標準治療と考えられている PLD の一律投与 (4-6 回) が免疫不全を助長することで逆に予後を悪化させている可能性を示唆しており、本研究班の「リポゾーマルドキソルピシンの使用基準、回数について再考を促す (早期中止を検討)」とする提言の妥当性を示すものであると考えられた。(照屋)

カポジ肉腫患者において、血中の KSHV DNA 量の検討を行い、KSHV DNA が検出された例のなかには血球貪食症候群 (VAHS) や悪性リンパ腫を合併した例があり、病勢との関連が示唆された。また、HIV 感染者における抗 KSHV 抗体の変化について検討し、推定感染経路が同性間性的接触であった症例で高い抗体陽転化率を認めた。さらに、KSHV 関連疾患について、多施設調査を行い、PEL 5 例、KSHV 関連悪性リンパ腫 3 例、KSHV 関連血球貪食症候群 3 例、KSHV 関連腹水貯留が 1 例の計 11 例を解析した。(上平)

(4) 治療ガイドラインの改訂および普及

昨年度に作成した「AIDS に合併するカポジ肉腫等の HHV-8 関連疾患における診断と治療の手引き」の改訂を行なった (今村、照屋、上平、片野)。内容は、KSHV のウイルス学 (片野)、カポジ肉腫の概論、診断、画像所見、治療など (今村)、病理所見 (片野)、皮膚所見 (大阪医療センター 皮膚科 小澤健太郎)、内視鏡所見 (国立国際医療研究センター 永田尚義)、キャッスルマン病 (照屋)、原発性滲出性リンパ腫 (東京医大 四本美保子、熊本大学 岡田誠治)、KSHV 関連情報 (上平) であるが、さらに、主な改訂点として、昨年度に行ったアンケート調査の結果を加えるとともに、カポジ肉腫の難症例集を追加し、難症例に対する具体的治療例を提示した。また、本書に掲載された治療法の要点をまとめたものを、日本エイズ学会誌へ掲載した。

D. 考察

KSHV による発症機構の解明と治療、予防法の開発、KSHV 感染症の現状把握と適切な治療法の普及を目標とし、基礎研究、臨床研究とも、KSHV 感染の解明、カポジ肉腫治療を考慮するうえで、有用な知見を得ることができた。

KSHV 潜伏感染ウイルスゲノム複製におけるウイルス潜伏感染遺伝子 LANA の機能解析について

は、LANA-DBD は発現量も多く、強い ori-P 結合活性を示すが、それに比し複製効率は高くはない。LANA-DBD を宿主核マトリックス因子 NuMA とキメラにし核マトリックスへの局在させることにより複製効率の上昇がみられた。このことは核マトリックスという場が ori-P 複製能に極めて重要であることを示唆している。核マトリックスは、宿主複製装置を構成する pre-RC などの豊富な核内領域と考えられ、LANA がその ori-P 結合能でウイルスゲノムを核マトリックスへ引寄せ、複製し易い状況を整えていると考えられる。LANA がどのような機構で核マトリックスへ局在するのかについては、より微細な欠失変異体の作製等で詳細に解析する必要がある。(上田)

KSHV 関連疾患の miRNA の解析では、KSHV 感染細胞にヒト miRNA である miR-143 が高発現していることが明らかになった。カポジ肉腫で miR-143 が高発現しているとの報告はすでにあるもの (Blood. 2009 113:5938-41)、KSHV 感染細胞に有意に高発現するヒト miRNA の発見は意義深い。しかも、miR-143 は血管平滑筋細胞の分化誘導に関与することがこれまでの研究から示されており (Nature 2009 460: 705-10)、カポジ肉腫や PEL 細胞が、VEGF などの血管新生を誘導するサイトカインを産生する事実を勘案すると、miR-143 がこれらサイトカインの発現誘導と関連している可能性が示唆される。In vitro の感染実験などでの実証が必要であるが、今後、KSHV 感染における、この miRNA の病因的意義を検討する必要がある。(片野)

サンギバマイシンは、ATP 誘導体として機能することで細胞のプロテインキナーゼ C を阻害し様々なシグナル伝達に影響を及ぼす。本研究により、サンギバマイシンは Raf と Erk のリン酸化を阻害することを見出した。プロテインキナーゼ C (PKC) は、MAPK 経路の最上流分子の Raf と Erk のリン酸化を行い、MAPK-Erk 経路を正に制御していると考えられている。つまり、サンギバマイシンは PEL 細胞のプロテインキナーゼ C を阻害することで、Raf と Erk のリン酸化 (活性化) を抑制することが考えられる。(藤室)

AIDS に合併するカポジ肉腫の臨床像は多彩であり、従来の病期分類で化学療法の適応を判断することは困難であった。しかし、本研究で多くの症例を調査したことによって、化学療法を開始する基準を示した手引きが作成された。また、難治例や重症例を詳細に検討したことによって、その注重点や治療方針をまとめることができた。(今村)

最適な PLD の投与回数についての臨床的検討については、現在の標準治療と考えられている PLD の一律投与 (4-6 回) が免疫不全を助長することで、逆に予後を悪化させている可能性を示唆していた。この結果は、本研究班が「手引き」内で示した「PLD の投与回数に関する提言」の妥当性を示すものであると考えられる。(照屋)

血清中 KSHV 量や KSHV 抗体価の測定では、ウイルス量と病勢の関連、抗体価の陽転化が見られる症例があるなどの新しい知見があり、血中 KSHV DNA 定量は病勢の反映のみならず、予後規定因子となる可能性がある。(上平)

E. 結論

基礎的研究の成果としては、LANA による KSHV 複製機構の解明をおこなったこと、miRNA の発現プロファイルから KSHV 関連疾患に高発現する miRNA を同定したこと、PEL 細胞の細胞死を誘導する薬剤を同定したことが挙げられる。臨床面では、KSHV 関連疾患の臨床例の検討を行ない、「治療の手引き」の記載を確認するデータを得た。さらに、血清中抗 KSHV 抗体の検索を行った。「診断と治療の手引き」第 2 版を作成し、普及につとめた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

研究代表者

片野晴隆

- 1) Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Hagiwara S, Yajima K, Koizumi Y, Shirasaka T, Kojima Y, Nagai H, Yokomaku Y, Shiozawa Y, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, Katano H: Classification of AIDS-related lymphoma cases between 1987 and 2012 in Japan based on the WHO classification of lymphomas, fourth edition. *Cancer Med* 2014. 3:143-153.
- 2) Kariya R, Taura M, Suzu S, Kai H, Katano H, Okada S: HIV protease inhibitor Lopinavir induces apoptosis of primary effusion lymphoma cells via suppression of NF-kappaB pathway. *Cancer Lett* 2014. 342:52-59.

研究分担者

上田啓次

- 1) Ueda, K: "Start or End? ; one of the biggest mysteries is finally solved?" *Medical Microbiology and Diagnosis dx.doi.org/10.4172/2165-7866.1000e101*.

藤室雅弘

- 1) Wakao K, Watanabe T, Takadama T, Uia S, Shigemi Z, Kagawa H, Higashi C, Ohga R, Taira T, Fujimuro M: Sangivamycin induces apoptosis by suppressing Erk signaling in primary effusion lymphoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014, 444:135-140
- 2) Wakabayashi N, Skoko JJ, Chartoumpakis DV, Kimura S, Slocum SL, Noda K, Palliyaguru DL, Fujimuro M, Boley PA, Tanaka Y, Shigemura N, Biswal S, Yamamoto M, Kensler TW: Notch-Nrf2 axis: Regulation of Nrf2 gene expression and cytoprotection by Notch signaling. *Mol. Cell. Biol.* 2014, 34:653-663

今村顕史

- 1) 「カポジ肉腫による気道狭窄を生じたエイズ患者 3 例の検討」 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本、(2013.11)

照屋勝治

- 1) 照屋勝治、日和見感染症、診断、治療の実際、日本エイズ学会認定医講習会、第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会、熊本、(2013.11)

上平朝子

- 1) Watanabe D, Otani N, Suzuki S, Dohi H, Hirota K, Yonemoto H, Koizumi Y, Otera H, Yajima K, Nishida Y, Uehira T, Shima M, Shirasaka T, and Okuno T: Evaluation of VZV-specific cell-mediated immunity in adults infected with HIV-1 by using a simple IFN- γ release assay. *J Med Virol.* 85(8):1313-20, 2013

学会発表は各研究分担者の報告書を参照。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

新規予防薬の開発

研究分担者 片野晴隆 国立感染症研究所感染病理部 室長

研究協力者 上原妙子、坂本康太、福本 瞳、佐藤由子、長谷川秀樹

国立感染症研究所感染病理部

関塚剛史、黒田 誠 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター

研究要旨

カポジ肉腫の原因ウイルスであるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV または HHV-8) は、カポジ肉腫以外にも primary effusion lymphoma や multicentric Castleman disease などのリンパ増殖性疾患の発症とも関連し、これらの疾患の予後は悪い。日本のエイズ剖検例を調査したところ、カポジ肉腫は剖検例の 17%に見られた。また、日本のエイズ関連リンパ腫の 5%が KSHV に関連したリンパ腫であった。近年、宿主、あるいは、ウイルスがコードする microRNA (miRNA) が発癌に重要とされることから、KSHV 関連疾患の病理組織におけるヒト miRNA を含めた全 miRNA の発現を次世代シーケンサーにより解析した。その結果、ウイルスの miRNA では miRK4 の発現が高いこと、宿主の miRNA では miR-143 が KSHV 関連疾患で高発現していることが明らかになった。miR-143 はこれまでに血管平滑筋細胞の分化誘導に関与することが報告されており、血管新生を誘導するサイトカインの発現などに影響することが考えられる。今後、KSHV 感染症において、この miRNA の病因的意義を検討し、治療、感染予防薬の標的となり得るかを検討する。

A. 研究目的

カポジ肉腫はエイズ患者の 5%程度に見られ、悪性リンパ腫と共に、エイズに合併する悪性腫瘍として、エイズ指標疾患に挙げられる。カポジ肉腫の原因である KSHV の日本人健常者における抗体保有率は 1-5%程度であり、他のヒトヘルペスウイルスと比べると既感染率はきわめて低い。しかし、同性愛男性 (MSM) における KSHV の感染率は 12%と、健常者に比較し有意に高い (Katano et al. J Med Virol 2013)。エイズ関連カポジ肉腫は同性愛男性にほぼ限定して発症する。近年、日本でカポジ肉腫および KSHV 関連疾患が増加しているのは、新規の HIV 感染者の 7 割が MSM であることと関連がある。カポジ肉腫とリンパ腫は同じ悪性腫瘍に分類されるが、その病態は 2 者間で大きく異なる。本研究では日本のエイズ患者におけるカポジ肉腫、リンパ腫などの正確な頻度を調べるために、東京、および大阪地区のエイズ拠点病院におけるエイズ剖検例を検索した。また、エイズ

関連リンパ腫の中にも、KSHV が関連するものがあることから、その頻度を明確にした。

KSHV による発癌機構はいまだに不明な点が多いが、近年、発癌一般には宿主側の microRNA (miRNA) が重要な働きをしていることが多数報告されている。miRNA は 20mer 程度の短い RNA であり、宿主の mRNA に結合し、転写や翻訳の制御に関わる。ヘルペスウイルスは 100-200kbp の DNA ウイルスであり、自らの遺伝子に miRNA をコードし、感染細胞でウイルスがコードする miRNA を発現させる。KSHV には 17 個の miRNA がコードされており、近年、多くの論文で、これらの miRNA が KSHV による発癌、腫瘍化に重要な役割を果たすことが示されている。われわれは昨年度までに KSHV の miRNA の発現について、次世代シーケンサーや real-time PCR を用いて、KSHV がコードする 17 種類の miRNA のうち、miRK12-3 といわれる miRNA がカポジ肉腫、primary effusion lymphoma などの KSHV 関連疾患で発現が高いこ

とを見だし、その機能解析を行った（投稿準備中）。本年度は次世代シーケンサーを用い、KSHVのmiRNAのみならず、ヒトmiRNAを含めたmiRNAを網羅的に解析し、KSHV感染におけるmiRNAのプロファイルを明らかにすると共に、感染、発癌に重要なmiRNA、miRNAプロファイルの同定を試み、新規治療、感染予防薬の標的となり得るかを検討した。

B. 研究方法

1. 日本におけるKSHV関連疾患の頻度

厚労科研エイズ対策研究事業「ART早期化と長期化に伴う日和見感染症への対処に関する研究」（班長 安岡彰 市立大村市民病院副院長）、および、「HIV感染者の長期予後を規定するエイズリンパ腫の全国規模多施設共同臨床試験の展開と包括的医療体制の確立」（班長 岡田誠治 熊本大学教授）の分担研究と共同し、剖検例の解析、および、エイズ関連リンパ腫の解析を行った。詳細はそれぞれの班の報告書を参照されたい。

2. KSHV関連疾患におけるmiRNA発現の解析

Small RNAの抽出はHigh Pure miRNA extraction kit（ロシュ・ダイアグノスティックス）を用いた。次世代シーケンサーによるsmall RNAの網羅的解読は、イルミナ社のTruSeq small RNA kitにより、small RNAのライブラリー調整を行った後に、イルミナ社の次世代シーケンサーを用いてmiRNAの網羅的解析を行った。解析にはCLC Genomics

Workbench（CLC bio社）を用いた。

（倫理面に対する配慮）

ヒト検体を用いた研究は国立感染症研究所、および、試料を提供した各院の倫理委員会の承認を得た（国立感染症研究所 ヒトを対象とする医学倫理委員会 承認番号 272, 355, 356）。

C. 研究結果

1. 日本におけるKSHV関連疾患の頻度

東京、および、大阪地区のエイズ拠点病院におけるエイズ剖検例225例の検索では剖検例でカポジ肉腫を合併していた症例は38例（17%）であった。これは悪性腫瘍としては非ホジキンリンパ腫の71例（32%）に次ぐものであった。剖検例の死因の調査では、カポジ肉腫が死因となった症例は5%に及んだ。

日本のエイズ関連リンパ腫症例207例を2008年に発表されたWHO分類第4版に従い組織学的分類を行った。KSHVは全リンパ腫の5%に検出され、primary effusion lymphoma (PEL)が9例、Large B-cell lymphoma arising in HHV-8 associated multicentric Castleman disease (LBL-HHV8 MCD)が2例であった（図1）。診断後1年死亡率では、PELおよびLBL-HHV8 MCDは他の組織型のリンパ腫に比較し、有意に死亡率が高く、KSHV関連リンパ腫の予後が悪いことが明らかになった（図2）。

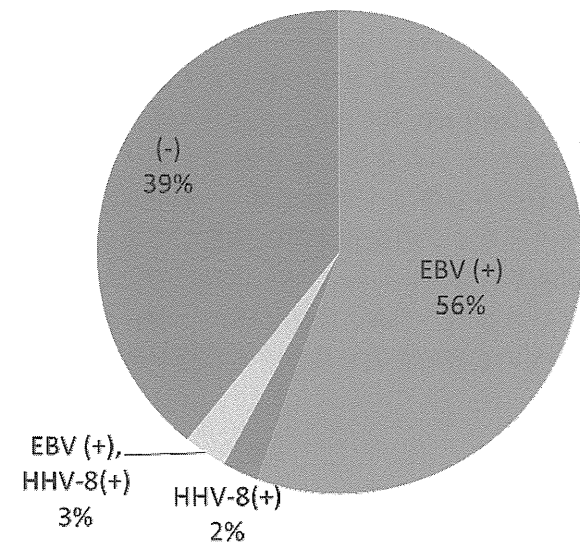


図1

日本のエイズ関連リンパ腫におけるEBV、KSHV（HHV-8）感染率。KSHV陽性症例は全体の5%を占める。

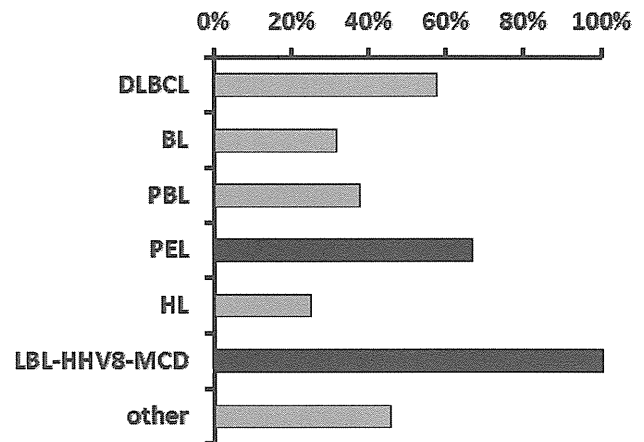


図2

組織型による診断後1年における死亡率。KSHV関連リンパ腫であるPEL、LBL-HHV8-MCDは他の組織型と比べ予後が悪い。DLBCL: diffuse large B-cell lymphoma, BL: Burkitt lymphoma, PBL: plasmablastic lymphoma, PEL: primary effusion lymphoma, HL: Hodgkin lymphoma, LBL-HHV8-MCD: Large B-cell lymphoma arising in HHV-8 associated multicentric Castleman disease.

2. KSHV 関連疾患における miRNA 発現の解析

PEL 2 症例、カポジ肉腫 8 症例、MCD 3 症例に加え、PEL 細胞株 2 株から small RNA を抽出し、次世代シーケンサーによりすべての遺伝子配列を解読した。臨床例からは平均して 10 万本の annotated read が得られ、KSHV の miRNA が 0.1% - 23% を占めていた。EBV の miRNA も PEL、MCD からは検出されているが、カポジ肉腫では EBV の miRNA は検出されなかった。残りはすべてヒトの miRNA であった。ヒト miRNA を含めたすべての miRNA の発現を元に、heat map を作製し、各症例をクラスター分類した (図 3)。その結果、PEL、MCD、KS 症例がそれぞれ、近いクラスターに含まれるもの、同一のクラスターに異なる分類の症例が混ざることから、miRNA の発現から症例を分類することは不可能であった。miRNA ごとの発現を検討したところ、PEL、KS、MCD のそれぞれの疾患で最も発現の多い miRNA はヒト miRNA である miR-143 であり、全 miRNA の 14-18% 程度がこの miRNA であった (図 4)。多くの細胞で高発現が見られる miR-21 や miR-16 よりも多くの read 数が検出されており、他の疾患、例えば、EBV 関連リンパ腫や EBV で形質転換した lymphoblastoid cell line などでは miR-143 の発現レベルは低く、KSHV 関連疾患に特異的な現象と思われた。KSHV がコー

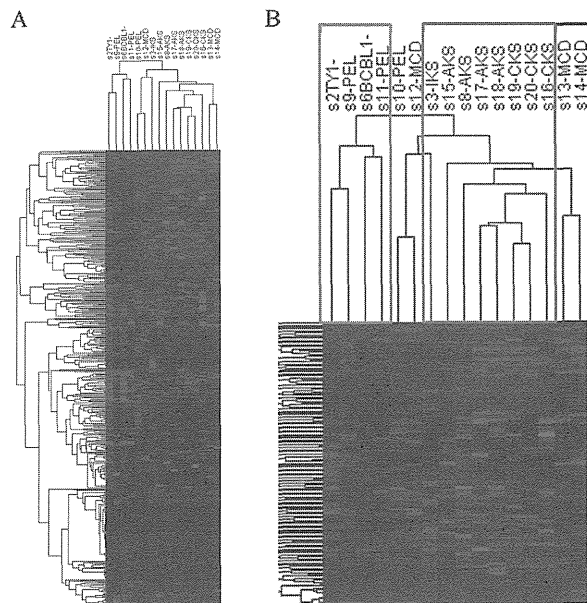


図 3

miRNA 発現による KSHV 関連疾患の Heat map およびクラスター分類。A すべての miRNA の発現による heat map。B はその拡大。KS は同じクラスターに入るが、リンパ増殖性疾患と完全に区別することはできない。PEL: primary effusion lymphoma, AKS: AIDS-associated KS, CKS: classic KS, MCD: multicentric Castleman disease, TY-1, BCBL1: KSHV 陽性細胞株。

ドする miRNA の中では miRK4, miR-K8, miR-K3 などの発現が高かったが、疾患ごとにウイルス miRNA の種類に違いがあることは前年度の報告書にも記載した。miR-143 以外に KSHV 関連疾患特異的、あるいは、各疾患特異的に高発現する miRNA と考えられるものは見つからなかった。

D. 考察

剖検例の検索において、KSHV 関連疾患の頻度が明らかになった。カポジ肉腫の合併率 17% は、臨床でエイズ患者に見られるカポジ肉腫の頻度 (5% 程度) よりも遙かに高い。剖検例は CD4 が 200 以下の症例が 7 割以上であり、ART が導入されていても、HIV のコントロールがうまくいかず、CD4 がなかなか増えないところで、致命的な合併症を発症した症例が多いと考えられる。剖検で見られるカポジ肉腫の頻度は ART が導入される 1997 年の前後で不変である。KSHV 関連リンパ増殖性疾患はむしろ、近年増加する傾向にある。KSHV 関連リンパ増殖性疾患は、明らかに他の組織型のリンパ腫と比べると予後が悪いことも判明した。今後、MSM の HIV 感染者が増加していることを考慮すると、カポジ肉腫、および、KSHV 関連リンパ増殖性疾患の発症には十分な注意が払われるべきである。

KSHV 関連疾患の miRNA の解析では、KSHV 感染細胞にヒト miRNA である miR-143 が高発現していることが明らかになった。カポジ肉腫で miR-143 が高発現しているとの報告はすでにあるものの (Blood. 2009 113:5938-41)、KSHV 感染細胞に有意に高発現するヒト miRNA の発見は意義深い。しかも、miR-143 は血管平滑筋細胞の分化誘導に関与することがこれまでの研究から示されており (Nature 2009 460: 705-10)、カポジ肉腫や PEL 細胞が、VEGF などの血管新生を誘導するサイトカインを産生する事実を勘案すると、miR-143 がこれらサイトカインの発現誘導と関連している可能性が示唆される。In vitro の感染実験などでの実証が必要であるが、今後、KSHV 感染における、この miRNA の病因的意義を検討する必要がある。

E. 結論

カポジ肉腫は日本のエイズ剖検例の 17% に見られた。また、日本のエイズ関連リンパ腫の 5% が KSHV に関連したリンパ腫であった。KSHV 関連疾患の病理組織における全 miRNA の発現を次世代

シーケンサーにより解析し、ウイルスの miRNA では miRK4 が、宿主の miRNA では miR-143 が KSHV 関連疾患で高発現していることを明らかにした。今後は KSHV 感染における miR-143 の病因的意義と、治療、感染予防薬の標的となり得るかを検討する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Hagiwara S, Yajima K, Koizumi Y, Shirasaka T, Kojima Y, Nagai H, Yokomaku Y, Shiozawa Y, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, Katano H: Classification of AIDS-related lymphoma cases between 1987 and 2012 in Japan based on the WHO classification of lymphomas, fourth edition. *Cancer Med* 2014. 3:143-153.
- 2) Kariya R, Taura M, Suzu S, Kai H, Katano H, Okada S: HIV protease inhibitor Lopinavir induces apoptosis of primary effusion lymphoma cells via suppression of NF-kappaB pathway. *Cancer Lett* 2014. 342:52-59.

2. 学会発表

- 1) 片野晴隆、佐藤由子、中島典子、福本 瞳、鈴木忠樹、黒田 誠、長谷川秀樹：病理検体からの不明病原体検出法の最先端 ワークショップ「感染病理学の新展開」第 102 回 日本病理学会総会 札幌 2013 年 4 月
- 2) 片野晴隆、坂本康太、吉岡妙子、関塚剛史、福本 瞳、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田 誠：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV/HHV-8) 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現 第 102 回 日本病理学会総会 札幌 2013 年 4 月
- 3) 片野晴隆、比島恒和、坂本康太、上原妙子、佐

藤由子、長谷川秀樹、関塚剛史、黒田 誠：EBV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル 第 10 回 EB ウイルス研究会 京都 2013 年 7 月

- 4) 菅野隆行、上原妙子、福本 瞳、長谷川秀樹、片野晴隆：抗血管新生薬による KSHV 再活性化 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013 年 11 月
- 5) 片野晴隆、比島恒和、坂本康太、上原妙子、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚剛史、黒田 誠：EBV 関連リンパ増殖性疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013 年 11 月
- 6) 片野晴隆、味澤 篤、田沼順子、萩原将太郎、岡慎一、矢嶋敬史郎、小泉祐介、上平朝子、鯉淵智彦、岩本愛吉、横幕能行、小島勇貴、永井宏和、岡田誠治：日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理組織分類 第 27 回日本エイズ学会学術集会総会 熊本 2013 年 11 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

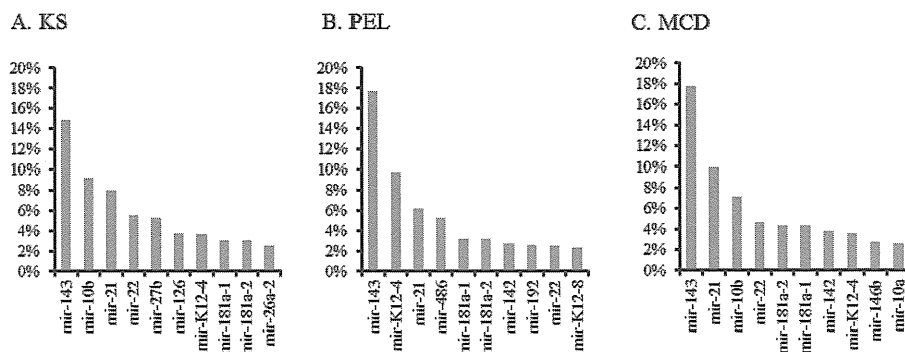


図 4

KSHV 関連疾患におけるヒトおよび KSHV の miRNA の発現。疾患ごとに発現の高い miRNA を read 数の多い順に並べた。縦軸は annotate されたすべての read に占める割合を%で示す。PEL: primary effusion lymphoma, KS: Kaposi sarcoma, MCD: multicentric Castleman disease

KSHV の潜伏感染、再活性化機構と KSHV に起因する病態発症機構の解明

研究分担者 上田啓次 大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授

研究協力者 大崎恵理子、鄭 鑫 大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学

研究要旨

KSHV の潜伏感染は、カポジ肉腫 (Kaposi's sarcoma; KS)、原発性滲出性リンパ腫 (primary effusion lymphoma; PEL) や多中心性キャッスルマン病 (multicentric Castleman's disease; MCD) の KSHV 関連疾患の発生源を形成していると考えられる。従って、その維持機構の詳細を解明することは、関連疾患の発症機構の解明やそれに基づく治療法の開発につながる。本研究では、潜伏感染ウイルスゲノム複製・分配・維持機構、宿主・ウイルス遺伝子発現制御機構などの解明を通して、KSHV 関連癌を中心とした病態発症機構の解明を目指している。平成 25 年度には、LANA の DNA 結合ドメイン (LANA-DBD) は、宿主核マトリックス因子 NuMA とキメラ化し、核マトリックスへ局在することで、LANA-DBD のみより著しく効率の良い複製能を獲得することが示された。このことは核マトリックスが潜伏感染におけるウイルスゲノム複製の場として極めて重要であることを更に裏付ける結果である。また、KSHV 潜伏感染 PEL 細胞株で発現亢進している宿主遺伝子、angiopoietin-1 (Angpt-1) の発現制御機構に関わる約 30bp の責任領域を同定した。

A. 研究目的

KSHV の潜伏感染は KSHV 関連疾患の基礎を形成していると考えられ、その維持機構の詳細を解明することは、関連疾患の発症機構の解明やそれに基づく治療法の開発につながると考えられる。本研究では、潜伏感染ウイルスゲノム複製・分配・維持機構、宿主・ウイルス遺伝子発現制御機構などの解明を通して、KSHV 関連癌を中心とした病態発症機構の解明を目指すものである。

DNA ウイルスの潜伏感染は、細胞周期に呼応し、ウイルスゲノム複製・維持・分配を如何に宿主複製機構に依存させるかによって達成される。KSHV ではウイルスゲノム複製・分配・維持に関わる因子として LANA が重要な役割を果たしているが、その機能の詳細は不明な点が多い。LANA はウイルスゲノム末端の反復配列 (terminal repeat; TR) に結合配列 (LANA binding sites; LBS) をもち、宿主複製開始前複合体 (pre-replication complex; pre-RC) をリクルートすることで潜伏感染におけるウイルスゲノムを達成すると説明されているが、それ以上のことはわかっていない。我々はこれまで

LANA が核内の核マトリックスに局在することを示し、pre-RC の豊富な核マトリックスへウイルスゲノムを集結させることが重要な複製機構の一つになっていることを示してきた。本年度は、宿主核マトリックス因子 NuMA と LANA の LBS 結合ドメイン LANA-DBD とのキメラ蛋白の機能を検討することでウイルスゲノム複製の場としての核マトリックスの意義を追求した。

ウイルス潜伏感染細胞では恒常的なウイルス遺伝子の発現によりその遺伝子発現プロファイルが大きく変化することが起こりうる。我々は KSHV 潜伏感染 PEL 細胞株が独特の遺伝子発現プロファイルを示すこと、発現亢進する宿主遺伝子として angiopoietin-1 (Angpt-1) があることを示してきた。血管構築に関わる Angpt-1 の発現亢進は KSHV 感染個体における病態形成に関し、その影響が予測される。そこで PEL 細胞株における Angpt-1 の発現制御機構の解明に取り組んだ。

B. 研究方法

I) KSHV 潜伏感染ウイルスゲノム複製におけるウイルス潜伏感染遺伝子 LANA の機能解析

- 1) LANA 欠失体を核マトリックス分画へ移行させるために、蛍光蛋白 Halo と宿主核マトリックス因子 NuMA とのキメラ蛋白を構築した。(Halo、Halo-LANA、Halo-NuMA-DBD、Halo-DBD-NuMA、Halo-DBD、Halo-NuMA) を作製した。
- 2) これらの欠失体、融合体の細胞内局在を免疫蛍光染色法及び生化学的細胞分画法で検討した。
- 3) また複製能を KSHV 潜伏感染 origin (ori-P) プラスミドとの co-transfection により検討した。
- 4) 複製効率を定量評価するために ori-P 結合能を ChIP により検討した。

II) KSHV 潜伏感染 primary effusion lymphoma (PEL) 細胞株で発現亢進する宿主遺伝子、angiopoietin-1 (Angpt-1) の発現制御機構の解明

- 1) PEL 細胞株培養上清中における Angpt-1 の分泌量を ELISA により測定した。パーキットリンパ腫培養細胞株を中心とした KSHV 非感染細胞株培養上清中の Angpt-1 と比較した。
- 2) Angpt-1 cDNA をクローニングし、陽性及び陰性コントロールとして HEK293 と BJAB 細胞株で LacZ・V5・His₆、Angpt-1・V5・His₆ を発現する細胞株を樹立した。
- 3) Angpt-1 発現制御機構を解明する目的で、Angpt-1 遺伝子発現制御領域約 1kb をクローニングし、luciferase レポーターアッセイ系を構築した。

- 4) 5' から種々の欠失体を作製し、レポーターアッセイにより責任領域の同定を試みた。
- 5) 責任領域に結合する宿主因子を endogenous mobility shift assay (EMSA) により検討した。

(倫理面への配慮)

現時点では、遺伝子組み換え実験に関する指針に合致した申請・許可のもとに実験を遂行する以外に該当する研究内容はないものと思われる。

C. 研究結果

I) KSHV 潜伏感染ウイルスゲノム複製におけるウイルス潜伏感染遺伝子 LANA の機能解析

- 1) 宿主核マトリックス因子 NuMA とキメラ蛋白 (Halo、Halo-LANA、Halo-NuMA-DBD、Halo-DBD-NuMA、Halo-DBD、Halo-NuMA) うち、Halo-NuMA-DBD、Halo-DBD-NuMA、Halo-NuMA は核マトリックス分画へ移行した(図1)。Halo-DBD は核内に局在するが、核質〜クロマチン分画への局在であると考えられた。
- 2) Halo-DBD の発現量は他の構築に比し、著しく高く、また LBS への結合能も相対的に著しく高いものであった。
- 3) 一方、oir-P 依存性複製能は、LBS 結合能で標準化すると、Halo-LANA、Halo-NuMA-DBD、Halo-DBD、Halo-DBD-NuMA の順に相対評価された(図2)。

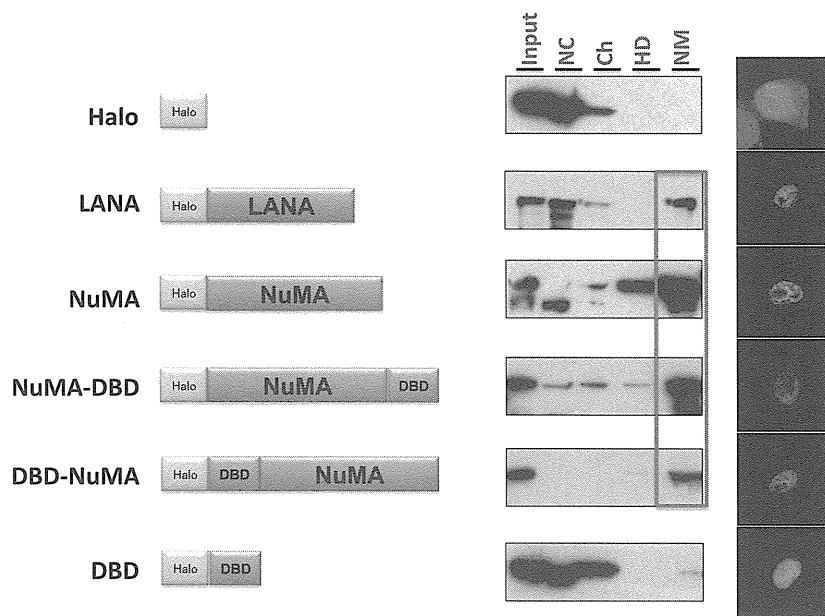


図 1

NuMA/DBD キメラタンパクは核マトリックス分画に局在する

II) KSHV 潜伏感染 primary effusion lymphoma (PEL) 細胞株で発現亢進する宿主遺伝子、angiopoietin-1 (Angpt-1) の発現制御機構の解明

- 1) KSHV 潜伏感染 PEL 細胞株培養上清中には、バーキットリンパ腫培養細胞株の培養上清中に比し、有意に Angpt-1 が上昇していた。
- 2) Angpt-1 発現制御責任領域の同定実験では、転写開始部位から -143 ~ -109nt に重要な cis エレ

メントが存在していると思われた。

- 3) 本エレメントには KSHV 潜伏感染遺伝子産物である LANA、vCYC、vFLIP、vIRF3 は作用しなかった。
- 4) EMSA により -143 ~ -109nt 領域には特異的な宿主因子が結合していることが示された (図 3)。

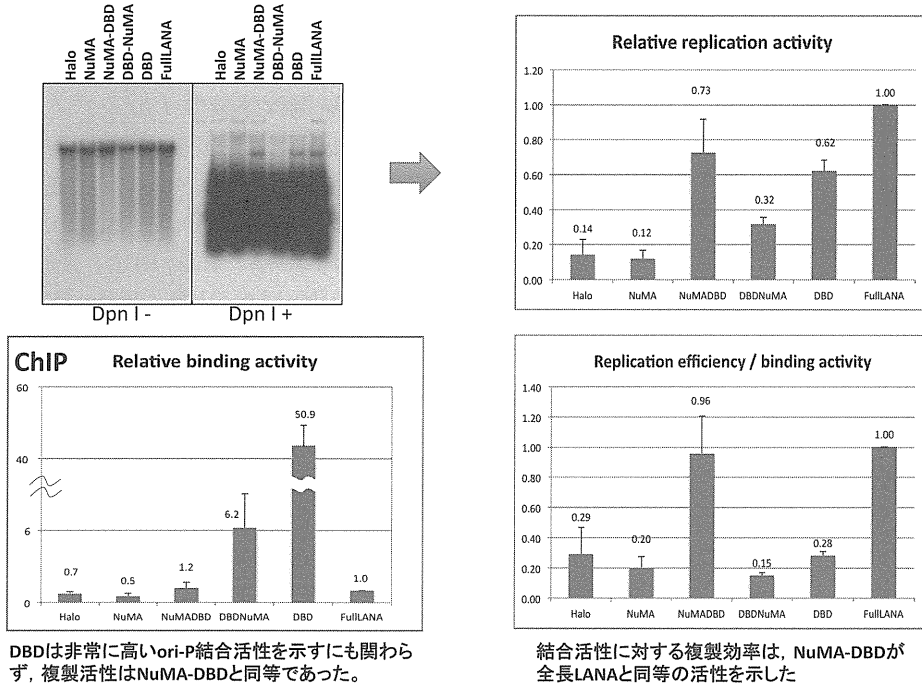


図 2 NuMA/DBD キメラタンパクは ori-P 結合活性と DNA 複製活性を示す

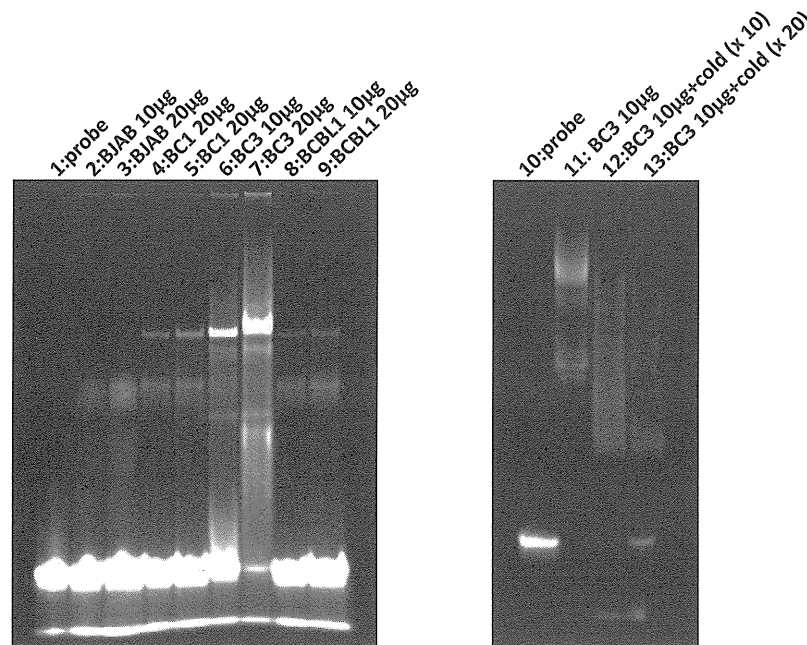


図 3 -143 ~ -109nt(D1) 領域には PEL 特異的な因子が結合する

D. 考察

I) KSHV 潜伏感染ウイルスゲノム複製におけるウイルス潜伏感染遺伝子 LANA の機能解析

LANA-DBD は発現量も多く、強い ori-P 結合活性を示すが、それに比し複製効率は高くはない。LANA-DBD を宿主核マトリックス因子 NuMA とキメラにし核マトリックスへの局在させることにより複製効率の上昇がみられた。このことは核マトリックスという場が ori-P 複製能に極めて重要であることを示唆している。核マトリックスには宿主複製装置を構成する pre-RC などの豊富な核内領域と考えられ、LANA がその ori-P は結合能でウイルスゲノムを核マトリックスへ引寄せ、複製し易い状況を整えていると考えられる。しかしながら、ori-P は LBS とそれに続く 32bp の GC に富んだ配列 (32GC) からなり、本結果からは 32GC の必要性は説明できない。また、Halo-NuMA-DBD と Halo-DBD-NuMA とでは異なった複製能を示すことから、DBD が C 末に位置することが、複製効率を上げる一つの因子になっていると思われる。

LANA がどのような機構で核マトリックスへ局在するのかについては、より微細な欠失変異体の作製等で詳細に解析する必要がある。

II) KSHV 潜伏感染 primary effusion lymphoma (PEL) 細胞株で発現亢進する宿主遺伝子、angiopoietin-1 (Angpt-1) の発現制御機構の解明

今回の結果から、KSHV が潜伏感染している PEL 細胞環境で発現されている宿主因子が、-143 ~ -109nt 領域に作用して Angpt-1 の発現を亢進させていることが示唆された。今回、Kaposin の影響は検討できなかったが、KSHV の潜伏感染蛋白因子が直接作用している可能性は低いものと思われた。KSHV 潜伏感染で発現している KSHV 関連 miRNA の影響があるのかもしれない。

KSHV 感染 B 細胞から大量の Angpt-1 が分泌されると想定される。Angpt-1 は Tie-2 を受容体としてシグナル伝達依存性に血管新形成や血管リモデリングに寄与している因子であり、AIDS 病態下の多彩な病態形成；サイトカインの分泌、浮腫、CD4T 細胞減少以外の理由による易感染性、カポジ肉腫の発症とその複雑な病態形成などに関与しているものと考えられる。

E. 結論

核マトリックスは KSHV ゲノムの潜伏感染複製の場として重要であり、核マトリックスへ集積するという LANA の本質により達成されている。

KSHV 潜伏感染が形成する PEL 細胞環境により Angpt-1 の発現が亢進する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ueda, K: "Start or End? ; one of the biggest mysteries is finally solved?" Medical Microbiology and Diagnosis dx.doi.org/10.4172/2165-7866.1000e101.
- 2) 上田啓次:「HBV 遺伝子と関連抗原」Hepatology Practice. pp2-9. 文光堂、2013.
- 3) 上田啓次:「グルココルチコイド感受性領域」Hepatology Practice. pp149-151. 文光堂、2013.

2. 学会発表

- 1) Zheng Xin、大崎恵理子、上田啓次: KSHV 感染 PEL 細胞で Angpt-1 遺伝子発現制御機構の解析. 第 28 回ヘルペスウイルス研究会. 淡路夢舞台国際会議場 (2012. 5)
- 2) 大崎恵理子、上田啓次: カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスのゲノム分配メカニズムについて. 第 28 回ヘルペスウイルス研究会. 淡路夢舞台国際会議場 (2012. 5)
- 3) Zheng Xin、大崎恵理子、上田啓次: KSHV 感染 PEL 細胞で Angpt-1 遺伝子発現制御機構の解析. 第 10 回 EB ウイルス研究会. キャンパスプラザ京都 (2012. 7)
- 4) 上田啓次: HBV 感染症克服へ向けた HBV 研究展開 - 受容体の分離・同定と感染系の構築を中心に -. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸国際会議場. (2013. 11)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

新規治療薬の開発 (抗 PEL 化合物および抗 KSHV 化合物の開発)

研究分担者 藤室雅弘 京都薬科大学 細胞生物学 教授

研究要旨

γ -ヘルペスウイルス亜科に属すカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV) は健常者に感染すると深刻な疾患を起こさずにそのまま宿主に潜伏感染し、エピゾームとして核内で維持される。しかし、感染者の免疫不全時に KSHV はカポジ肉腫や原発性体腔液性リンパ腫 (Primary effusion lymphoma: PEL) を引き起こす。昨年度、我々は PEL を標的とした抗腫瘍化合物、および KSHV 複製阻害活性を持つ化合物の探索を実施した。その結果、核酸誘導体のサンギバマイシンが PEL 細胞内の Erk シグナル伝達を阻害し、PEL にアポトーシスを誘導することを見出している。本年度の研究により、サンギバマイシンは HSP90 阻害剤 (ゲルダナマイシン) やバルプロ酸との同時投与により、より低濃度で PEL 細胞に対して殺細胞活性を発揮することを見出した。また昨年度の研究により、ピロリジニウム型フラレーンは PEL 細胞の増殖抑制効果を有していることを明らかにしていたので、本年度はその作用機序解析を行った。その結果、ピロリジニウム型フラレーンは、PEL 細胞内の Akt と Erk シグナル、また Caspase9 のリン酸化と活性化を阻害することで PEL に対して細胞増殖抑制を示すことを見出した。最後に、本年度実施した抗 PEL 化合物スクリーニングにより、ニンニクの新芽由来のフィトケミカルであるジアリルトリスルフィド (Diallyl trisulfide) が PEL 細胞特異的な細胞増殖抑制効果を有していることも見出した。

A. 研究目的

カポジ肉腫は、1872 年にハンガリーの皮膚科医 Moritz K. Kaposi により、皮膚に生じる多発性の色素斑性肉腫として初めて報告された。その後、Giraldo らはカポジ肉腫の培養組織からヘルペスウイルス様粒子を同定し、また、疫学調査によりカポジ肉腫発症者の地域的偏在性は、伝染性の病原因子がカポジ肉腫発症の引き金であることを示唆していた。そして 1994 年、Chang らによりエイズに合併したカポジ肉腫より Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) が特定された。KSHV は γ -2 ヘルペスウイルス亜科 (rhadinovirus 属) に分類され、8 番目に発見されたヒト・ヘルペスウイルスであることからヒト・ヘルペスウイルス 8 型 (HHV-8) とも呼ばれる。KSHV の DNA 配列は γ -1 ヘルペスウイルス亜科 (lymphocryptovirus 属) の EBV や、KSHV と同属 (rhadinovirus) の herpesvirus saimiri (HVS) と相同性を持ち、約 170kbp の

KSHV 遺伝子内に約 90 個の ORF を有している。

ヒト体内において、KSHV は B 細胞と血管内皮細胞に潜伏感染することが明らかにされている。KSHV のトロピズム (細胞指向性) を決定する細胞のウイルスレセプターは明確ではないが、KSHV は他のヘルペスウイルス同様、細胞膜のヘパラン硫酸に親和性を有し、細胞のインテグリン α 3 β 1 や xCT とも結合する。KSHV の潜伏感染者の割合は、アフリカでは 50% 以上、EU や北米では 10% 程度、日本では 2% 以下と報告されている。

KSHV は健常者に感染すると重篤な疾患を伴わないで潜伏感染する。KSHV は標的細胞に吸着・侵入後、脱核して 2 本鎖 DNA として感染細胞核内で維持される。KSHV 潜伏感染時、KSHV 遺伝子は両側のターミナルリピートが繋がった環状 2 本鎖 DNA (エピゾーム) として存在し、ウイルスの再活性化により溶解感染 (lytic infection) に移行し、ウイルスの複製を開始する。なお、KSHV のエピ