

京都大学ウイルス・再生医科学研究所・朝長啓造

ボルナウイルスは神経親和性を持つ RNA ウイルスである。これまでの研究より、ボルナウイルスは感染細胞において、遺伝子の一部を宿主ゲノムに挿入することが明らかとなっている。しかしながら、宿主ゲノムに取り込まれたボルナウイルス遺伝子（内在性ボルナウイルス）の病原性への関与は明らかになっていない。本共同研究は、神経疾患の発症に関わる内在性ボルナウイルスの役割を明らかにすることを目的として行われた。特に本年度は、内在性ボルナウイルス発現による宿主遺伝子への影響に着目して解析を進めた。具体的な成果を以下に記載する。

ヒトゲノムには、ボルナウイルスのヌクレオプロテイン (N) 遺伝子に由来する遺伝子断片 (Endogenous bornavirus-like nucleoprotein: EBLN) は少なくとも 7 カ所に存在している。hsEBLNs は、ボルナウイルスの N 遺伝子と高い相同性を保持しており、培養細胞において RNA に転写されている。そこで、hsEBLNs が霊長類の進化において機能を付与されてきた可能性を明らかにするために、ヒトの様々な臓器における hsEBLNs の転写活性について詳細した。その結果、hsEBLNs の発現パターンは大きく 2 タイプに分けられることが明らかとなった。ひとつは、多くの臓器でユビキタスに発現しているタイプで、もうひとつのタイプは、主に精巣で高い発現が見られる hsEBLNs であった。

次に、hsEBLN-1 の発現抑制機構についてさらなる検討を行った。その結果、hsEBLN-1 の転写は、DNA メチル化、ヒストン脱アセチル化、そしてヒストンメチル化といった複合的なエピジェネティックにより制御を受けていることが明らかとなった。

さらに、hsEBLN-1 の転写産物が近傍遺伝子の転写に影響を与えている可能性の検討を行った。hsEBLN-1 からの転写は、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤やヒストンメチル化酵素に対する siRNA を用いて誘導できる。そこで、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤により hsEBLN-1 からの転写を誘導したところ、その上流に存在する遺伝子 COMMD3 の発現が有意に低下することが見出された。また、この COMMD3 転写制御は、hsEBLN-1 に対する siRNA を用いることで消失した。一方、hsEBLN-1 の相同遺伝子を持たない齧歯類の細胞を用いた時は、脱アセチル化酵素阻害剤による COMMD3 の発現抑制は認められなかった。このことから、COMMD3 の転写制御には下流の hsEBLN-1 の存在が重要であることが確認された。以上の結果から、hsEBLN-1 は RNA として機能し、周辺遺伝子の転写を制御していると考えられた。hsEBLN-1 が制御する COMMD3 は細胞の NF- κ B シグナルを負に制御する遺伝子である。このことは、宿主は hsEBLN-1 を獲得することで COMMD3 の活性を制御し、抗ウイルス活性をはじめ多くの細胞機能に関与するシグナル活性を高めていた可能性が示唆された。

論文リスト

1. Ikeda Y, Makino A, Holditch SJ, Lu B, Dietz AB and **Tomonaga K**. A novel intranuclear RNA vector system for long-term stem cell modification. *Gene Ther* **23**:256-262 (2016)
2. Horie M, Sassa Y, Iki H, Ebisawa K, Fukushi H, Yanai T and **Tomonaga K**. Isolation of avian bornaviruses from psittacine birds using QT6 quail cells in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **78**:305-308 (2016)
3. Horie M, Kobayashi Y, Honda T, Fujino K, Akasaka T, Kohl C, Wibbelt G, Mühldorfer K, Kurth A, Müller MA, Corman VM, Gillich N, Suzuki Y, Schwemmle M and **Tomonaga K**. An RNA-dependent RNA polymerase gene in bat genomes derived from an ancient RNA virus. *Sci Rep* **6**:25873 (2016)
4. Honda T, Yamamoto Y, Daito T, Matsumoto Y, Makino A and **Tomonaga K**. Long-term expression of miRNA for RNA interference using a novel vector system based on a negative-strand RNA virus. *Sci Rep* **6**:26154 (2016)
5. Komorizono R, Makino A, Horie M, Honda T and **Tomonaga K**. Sequence determination of a new parrot bornavirus-5 strain in Japan; implication of clade specific sequence diversity in the regions interacting with host factors. *Microbiol Immunol* **60**:437-441 (2016)
6. Honda T, Sofuku K, Matsunaga H, Tachibana M, Mohri I, Taniike M, and **Tomonaga K**. Detection of antibodies to Borna disease virus proteins in an autistic child and her mother. *Jpn J Infect Dis.* (Epub ahead of print)
7. Hirai Y, Hirano Y, Matsuda A, Hiraoka Y, Honda T and **Tomonaga K**. Borna disease virus assembles porous cage-like viral factories in the nucleus. *J Biol Chem* **291**:25789-25798 (2016)

収支報告

No.	種別	品名/内容	規格	数量	単位	単価	執行金額	予算残高
1	予算	平成28年度「共同利用・共同研究・熊本地震支援」研究費配分					-	500,000
2	物品	QIAGEN Plasmid Midi Kit (25)	キタゲン QIA-12143	1	個	29,808	29,808	470,192
3	物品	サンワリングチューブ 1.5ml 平底	ビーエルケイ B10000本	1	箱	16,200	16,200	453,992
4	物品	ウルトラオリゴ 逆相カラム精製	ゲライナー 6本	1	式	2,430	2,430	451,562
5	物品	レンズクリーナー溶液	カルテックス 50ml (4本入)	1	個	8,748	8,748	442,814
6	物品	μ-Slide 8ウェル ibiTreat ST 15枚	イーディンGT-B80826	2	個	21,384	42,768	400,046
7	物品	MEGAShortscript T7 Transcription Kit	invitrogen NV-AM 1354	1	個	62,694	62,694	337,352
8	物品	GR2-7μm ノール	ナカライ 29113-95 500M L	2	本	752	1,504	335,848
9	物品	1.5ml ハイパ-チューブ 丸底 ソフト	ワトソン 1000本入	3	袋	2,052	6,156	329,692
10	物品	ALBUMIN, BOVINE SERUM, FRACTION V	カビMER-12657510GM	1	個	12,150	12,150	317,542
11	物品	アンプル管 AP-5 褐色 150入	アールワン ASO-512503	1	個	5,832	5,832	311,710
12	物品	メッキスライ、エンドトキシンフリー サイホ	和光純薬 196-15645	2	本	1,350	2,700	309,010
13	物品	ウルトラオリゴ 逆相カラム精製	ゲライナー 2本	1	本	933	933	308,077
14	物品	ウルトラオリゴ 逆相カラム精製	ゲライナー 19mer	1	本	388	388	307,689
15	物品	CARD HYPER OVA	FERTILIP	15	個	5,292	79,380	228,309
16	物品	ゴナトトロピン筋注用1000単位	あすか製薬	1	個	3,024	3,024	225,285
17	物品	HTF	アーク-リソース	12	個	1,620	19,440	205,845
18	物品	無処理ディッシュ(表面処理なし)	旭テック WK-1000035	10	個	8,748	87,480	118,365
19	物品	Mineraloil, lightoil (neat), BioReagent	シグマ SAJ-M 8410-1L	6	本	8,910	53,460	64,905
20	物品	窒素 N2 フッ素缶タイプ 標準ガス	ジーエルサイエンス GLS-102011203	3	個	8,640	25,920	38,985
21	物品	動物用セトロピン 1000単位	あすかファーマ	2	個	8,100	16,200	22,785
22	物品	ゲルトレイ S-HR	ミュービッド 4枚入	2	箱	4,626	9,252	13,533
23	物品	ゲルトレイ L-HR	ミュービッド 2枚入	3	箱	4,160	12,480	1,053
24	物品	サンワカルマスク SM EW ホワイ	アールワン ASO-8784203 2個	1	式	1,053	1,053	0