

23. パポーバウイルス —ウイルスの分子進化と感染個体内変異—

余郷 嘉明

はじめに

私に与えられた演題はパポーバウイルスである。しかし、ウイルス分類に関する国際委員会 (ICTV) の第七回報告書によると、今までパポーバウイルス科を構成していたポリオーマウイルス属とパピロマウイルス属はそれぞれ独立して新しい科になった。本講演ではポリオーマウイルス科に絞って話をします。

ポリオーマウイルス科に属するウイルスは皆、宿主との密接な関係がある。ヒトを宿主とするウイルスは、BKウイルスとJCウイルス（それぞれBKV, JCVと略す）が知られている。以下ではJCVを中心に述べる。先ず、JCVの発見であるが、これは三つのステップからなっている。第一のステップは、このウイルスが起す疾患、すなわち進行性多巣性白質脳症（以下PMLと略す）の発見である。第二のステップは、電子顕微鏡によりPML患者の脳病変部からウイルス粒子が発見されたことである。第三のステップは、ヒト胎児グリア細胞を用いて脳病変部のウイルスの培養に成功したことである。

ヒト集団とJCV

1971年にJCVが初めて分離されたことにより、JCVのウイルス学的な研究が可能になった。このウイルスはヒトのO型赤血球を凝集する活性を持つので、赤血球凝集阻止反応により血中抗体価を容易に測定できる。世界各地で行われた血清疫学的な調査によって、JCVがヒト集団に蔓延していること、大部分のヒトは子供の時にJCVに無症候性感染することが明らかにされた。

東京大学医科学研究所・感染免疫大部門・ウイルス感染分野 (〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1)
Papovavirus: Short and Long-Term Evolution of Human Polyomavirus JC Virus
Yoshiaki Yogo
Laboratory of Viral Infection, Department of Microbiology and Immunology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan

1980年代初めに、免疫抑制患者や妊婦などの尿からJCVが検出された。このことから、腎に潜伏しているJCVが免疫抑制により再活性化されて尿に排泄されたと考えられた。実際、PML以外の疾患や事故で死亡したヒトの腎組織からJCV DNAが検出され、このことが裏付けられた。

1990年に我々は様々な患者の尿からJCV DNAを検出した。JCV DNAの検出率は疾患とは関係がなく、加齢と共に上昇することが明らかになった。また、同じJCV株が長期間、尿中に排出されることが見いだされ、ヒトは子供の時に感染したJCVを生涯持ち続けることが示唆された。また、他の研究グループによって、JCVは腎のみならず末梢血リンパ球やリンパ組織に潜伏感染していると報告されていたが、最近我々も、扁桃組織からJCV DNAを検出した（加藤ら、本学術集会）。

以上の知見は次のように要約できる。大部分のヒトは子供の時に無症候性に感染する。体内に入ったJCVは免疫反応によって完全に排除されず、一部のウイルスは腎組織、末梢血リンパ球、リンパ組織に行き、そこに生涯、持続感染する。成人においては、腎組織内のJCVは活発に増殖し、増えたウイルスは尿に排泄される。（なお、JCVは一部の尿細管上皮細胞でのみ増殖するので、腎の機能に対してほとんど障害を与えないと思われる。）尿に排泄されたJCVは未だ感染していない子供に侵入し、新たな感染を惹起すると考えられる。ヒトが誕生した太古から、JCVはこのような感染サイクルを繰り返して、ヒトと共に生きてきたウイルスである。一方、免疫が低下した患者にたいしてJCVは中枢神経系での脱髄疾患であるPMLを惹起する。PMLを発症した患者は初期の神経症状が現われてから、通常、数カ月から半年で死亡する。

感染個体内変異

我々がJCV DNAを尿から検出した頃、PML患者の脳組織に存在するJCV DNA（以下PML型JCV DNAと呼ぶ）に関して興味あることがわかっていった。JCVのゲノムは約5100塩基対の長さの環状、2本鎖DNAである。DNA複製開始点と後期蛋白の翻訳開始部位の間にエンハ

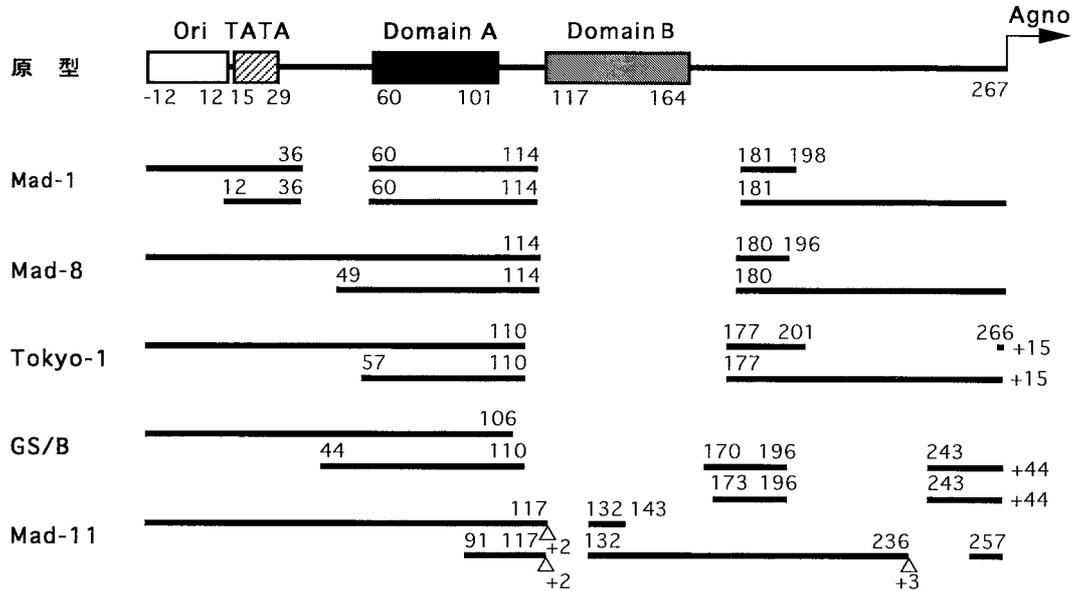


図 1 原型調節領域と PML 型調節領域との比較。
 最上部に原型調節領域を示す。Ori は DNA 複製の開始点, TATA は TATA 配列を表す。また, agnoprotein (Agno) の翻訳開始部位を示す。domain A は多くの PML 型調節領域で重複し, domain B は欠失している。数字はヌクレオチド番号を示す。原型調節領域の下に, 代表的な PML 型調節領域 (PML 患者の脳から直接クローニングされた JCV DNA の調節領域) を示した。図の表し方は以下の通りである。原型調節領域と同じ配列なら, 左から右へ線を引き, 欠失に出会ったらブランクにし, 重複に遭遇したら, 一段下の, 重複配列が開始する位置へ戻り, 再び右へ線を引く。

ンサー／プロモーター領域 (以下調節領域と呼ぶ) が存在する。この領域は hypervariable であり, その構造は患者毎に異なること, このような調節領域の多様性は欠失と重複によって起きることがわかってきた。JCV 調節領域の多様性は一体何を意味するのか。これを解くために, 次のような仮説をたてた (この仮説は当時我々が行っていた BKV に関する研究で得た知見を基にしている)。

1. 尿中 JCV は野生株である。
2. 野生株の調節領域は一定の構造を有す。
3. 野生株の調節領域に構造変化 (欠失と重複) が起きて, 多様な PML 型調節領域が作られる。

この仮説を検証するために, 我々は尿から JCV DNA をクローニングすることを試みた。8名の患者と2名の健康人の尿から JCV DNA をクローニングするのに成功した。各クローンの調節領域をシーケンシングした結果, 全てのクローンの調節領域の基本構造は一致した。我々は, 尿から検出された調節領域を archetypal regulatory region (日本語訳, 原型調節領域) と命名した。

世界中の人々の尿から検出された JCV DNA は全て原型調節領域を持っている。正常な腎組織から検出された JCV DNA は全て原型調節領域を持っている。扁桃組織から検出された JCV DNA も全て原型調節領域を持っている (加藤ら, 本学会)。以上から, ヒト集団で循環している JCV が原型調節領域を持っているといえる。

上述したように, PML 患者の脳からクローニングされた JCV DNA の調節領域は多様に変化しているが, このような PML 型調節領域は原型調節領域の構造変化によって作られたかどうかを検討した。図 1 の最上部に原型調節領域の構造を模式的に示している。原型調節領域の下に, いくつかの代表的な PML 型調節領域を整理させた。原型調節領域と PML 型調節領域をこのように並べて比較することによって, 今まで報告された全ての PML 型の調節領域が原型調節領域に欠失と重複 (または欠失のみ) によって作られたことがわかった。

次に, 我々は原型から PML 型への転換が患者体内で起きたことを証明した。そのために, 世界各地でクローニングされた原型 JCV DNA と PML 型 JCV DNA が必要であった。原型 JCV としては, 既に日本人からクローニングされた株と, 新たに, 台湾, ドイツ, オランダで集めた尿からクローニングされた株を用いた。PML 型 JCV としては, USA と日本で以前 PML 患者の脳からクローニングされた株を用いた。1065塩基からなる主要カプシド蛋白 (VP1) 遺伝子の塩基配列を決定し, 近隣結合法 (neighbor-joining 法, NJ 法と略す) で系統樹を作成した。(紙面の都合で作成された系統樹を示さないが, 後で説明する図 2 の系統樹を参照してほしい。) 作成された系統樹により, PML 型 JCV が自分自身の系統を持たないことが示された。このことは, PML 型 JCV が患者体内で原型 JCV

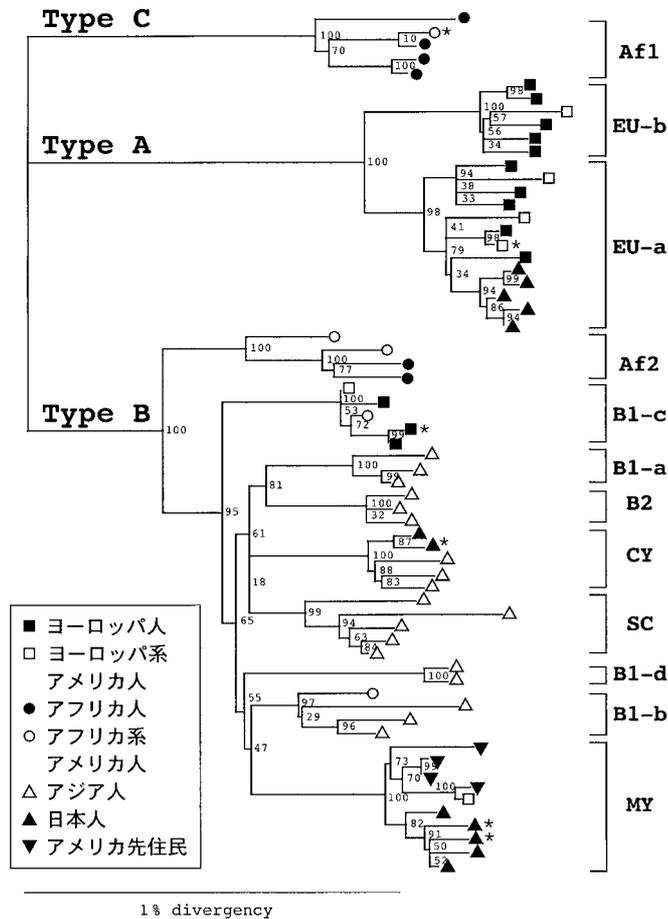


図2 世界中に分布する JCV 株の関連を示す分子系統樹。

65株の全長塩基配列から NJ 法により分子系統樹を作成した。各節における数字は、1,000回施行して得られた bootstrap 確率 (%) を示す。各株の由来は図中に示したシンボルで表した。PML 患者の脳から分離された株には星印を付した。図の右端に、ゲノム型 (サブタイプともいう) を示した。日本人からは主に CY と MY という二つのゲノム型が検出されるが、少数の EU-a が北日本、日本海側の人々から検出される。また、エスキモーを除く多くのアメリカ先住民から MY 型が検出される。

から生まれたことを示唆してゐる。

以上述べた知見を基に、我々は5項目からなる“Archetype Concept”を“The Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives”という本(後述)の中で提唱した。正確を期すため英文のまま引用する。

1. JCVs with the archetype regulatory sequence are circulating in the human population.
2. The archetype regulatory sequence is highly conserved, in marked contrast to the hypervariable regulatory sequences of PML-derived isolates.
3. Each of the PML-type regulatory sequences are produced from the archetype by deletion and duplication or by deletion alone.

4. The shift of the regulatory region from archetype to PML-type occurs during persistence in the host.
5. PML-type JCVs never return to the human population.

JCV の分子進化

前述のごとく、原型調節領域を持つ JCV の起源を解明する目的で、日本人、台湾人、ドイツ人、オランダ人、アメリカ人からクローニングされた JCV DNA の解析を行った。その過程で JCV のゲノム型が人種と関係があるということに気づいた。それは今から12年前のことであり、それ以来世界各地で尿の収集が始まった。集められた尿から JCV DNA の IG 領域 (長さ、610塩基対) を PCR で増幅

し、増幅断片の塩基配列を決定し、得られた塩基配列からNJ法により分子系統樹を作成した。その系統樹から世界中のJCVは12のタイプ(ゲノム型)に分けられた。各ゲノム型はそれぞれ特有の分布域を持っていた。例えば、EUというゲノム型はヨーロッパ全土と地中海沿岸地域に分布した。Af2というゲノム型はアフリカ全土と西アジア(インドを含む)に分布した。また、アジアでは種々のゲノム型が、部分的に重なり合って分布した。以上の知見は、JCVゲノム型がヒト集団と密接な関係があることを示している。このように、JCVゲノム型はヒト集団の新規な指標(マーカー)として1997年に登場した。

いくらJCVがヒト集団のマーカーとして適しているも、適切な解析法を用いなければ有用な知見は得られない。先ほど述べた部分配列(610塩基対のIG配列)をNJ法で解析するやり方はゲノム型の同定には役立つ。しかし、ゲノム型同士の系統関係を推定するには、部分配列に含まれる情報では少なすぎる。最近、JCV DNAの全長配列を用いると、信頼度の高い系統樹が得られることがわかってきた。一例を図2に示す。これは世界中のJCV、65株の全長配列を用いてNJ法により作成した系統樹である。65株のJCVは先ずType-A、-B、-Cに分かれた。Type-AはさらにEU-aとEU-bに分岐した。EU-aとEU-bはいずれもヨーロッパと地中海地方のゲノム型である。Type-Bからは先ずアフリカのゲノム型、Af2が分かれ、次いでヨーロッパの少数ゲノム型、B1-cが分かれ、その後でアジアのいろいろなゲノム型が分岐した。Type-Cか

らは唯一つのゲノム型、Af1が生まれた(Af1はガーナ、中央アフリカなどに分布する)。重要なことは、主要な分岐点と各ゲノム型の節(node)に対するbootstrap確率が95~100%と非常に高かったことである。このことは、図2で示されたJCVの系統樹に対する信頼度が有意に高いことを意味している。先ほど述べたようにJCVがヒト集団にリンクして進化してきたとすれば、ここに示された系統樹はヒト集団の分岐パターンを示していることになる。

おわりに

以上、JCVの遺伝的な変化を中心に述べた。本講演で取り上げたこと以外にもOverviewしなければいけない重要なことが沢山ある。幸い昨年秋に、“The Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives”(編者、Khalili, K, Stoner, G.L.: 出版社、John Wiley & Sons, New York)という本が出版された。ポリオマウイルスについてもっと知りたい方はこの本を参照してほしい。

このOverviewで紹介した我々のJCVに関する研究は、北村唯一(現東京大学医学部付属病院泌尿器科教授)、杉本知恵(現エイズ予防財団のリサーチ・レジデント)の両博士をはじめ、東京大学医科学研究所・ウイルス感染研究部に在籍した多くの方々との共同で行われた。また、検体の採取に際し、日本および世界各地の方々にご協力いただいた。これらの方々へ深く感謝する。