

【目的】カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) の溶解感染機構は未だ解明されていない部分が多く、KSHV に有効な治療薬のターゲットは未だに提示されていないのが現状である。ヘルペスウイルスは宿主因子なしには溶解感染を行うことができず、溶解感染の際に様々な宿主因子をハイジャックして自身の DNA 複製やウイルス粒子形成に役立っていることが知られている。しかし、KSHV では溶解感染に関わる宿主因子はほぼ知られておらず、KSHV 溶解感染機構の解明のためには KSHV の溶解感染に中心的役割を果たす宿主因子を発見することが急務である。これまでの研究で、プロテオーム解析を用いた結果、KSHV 溶解感染ではユビキチン様タンパクである FAT10 関連タンパク群の発現が上昇していることが明らかとなった。そこで本研究では、FAT10 関連タンパクの KSHV 溶解感染での機能解析を目的として研究を行った。

【方法】網羅的プロテオーム解析の結果、FAT10 関連タンパク群の発現が顕著に上昇していることがわかったため、ウエスタンブロット法を用いて確認を行った。また FAT10 についてもウエスタンブロット法および RT-定量的 PCR 法にて確認した。CRISPR/Cas9 を用いて FAT10 関連タンパクをノックアウトし KSHV の溶解感染に与える影響を解析した。また、超解像度顕微鏡を用いて FAT10 および関連タンパクの局在を確認した。さらに、免疫沈降-マス解析を用いて FAT10 化されるウイルスタンパクの探索を行った。

【結果】網羅的プロテオーム解析の結果、FAT10 関連タンパク群の発現が顕著に上昇していることがわかったため、ウエスタンブロット法を用いて確認を行ったところ、やはり発現が顕著に上昇していた。また FAT10 についてウエスタンブロット法および RT-定量的 PCR 法にて確認したところ、やはり KSHV 溶解感染において発現が顕著に上昇していたことが確認された。さらに CRISPR/Cas9 を用いて FAT10 関連タンパクをノックアウトしたところ、KSHV の粒子産生が顕著に低下した。これらの結果より、FAT10 系は KSHV の粒子形成に関わることが予測され、免疫沈降-マスを用いて FAT10 化されるウイルスタンパクの探索を行ったところ、やはりいくつかの KSHV 粒子形成に関わるとされるタンパクが FAT10 化される可能性が示唆された。

本研究から得られた FAT10 の関わる KSHV 溶解感染についてのモデル図

