

氏 名 (本 籍) 湯 川 恭 至 (島 根 県)

学 位 の 種 類 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 博 甲 第 1,961 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 10 年 7 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 論 文 題 目 Studies on Leukemogenicity of the Retroviral Env-Related Membrane Glycoprotein
(レトロウイルスエンベロープ関連膜糖蛋白質の白血病原性に関する研究)主 査 筑波大学客員教授 薬学博士 天 沼 宏
(理化学研究所)

副 査 筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌

副 査 筑波大学教授 理学博士 平 林 民 雄

副 査 筑波大学教授 理学博士 山 根 國 男

論 文 の 内 容 の 要 旨

フレンドウイルスはマウス急性白血病原性レトロウイルスで、ヘルパーウイルスであるフレンドマウス白血病ウイルス (F+MuLV) と急性白血病原性成分であるフレンド脾限局単誘発ウイルス (F-SFFV) の2種類のレトロウイルスから構成されるウイルス複合体である。F-SFFVによる成体マウスにおける急性の赤芽球系白血病においては、その修飾 *env* 遺伝子産物である膜糖蛋白質gp55によって多段階発癌の初期過程である脾過形成が担われている。gp55は赤血球前駆細胞表面膜上においてホモ二量体としてエリスポエチン受容体 (EpoR) と結合し、これを活性化し、この細胞の異常増殖を引き起こす。F-SFFVの修飾 *env* 遺伝子は、細胞性原癌遺伝子由来の配列を一切含んでおらず、マウスレトロウイルス *env* 遺伝子の配列のみで成り立っている。また、Epo遺伝子との相同性はない。親ウイルスと考えられるF-MuLVのecotropic (ET) *env* 遺伝子と比較して、1) 5' 側約950塩基におけるpolytropic (PT) MuLV *env* 配列による置換、2) 585塩基欠失、3) フレームシフトを伴う1塩基挿入の3つの構造的特徴を有している。

gp55のこれらの特徴的な一次構造とその生物活性、すなわち脾過形成の誘導および *in vitro* 細胞系におけるEpoRへの結合・活性化能との相関を明らかにする事を目的とした。3つの構造的特徴のうちPT*env* 配列およびフレームシフトを伴う1塩基挿入の2つを対象とし、変異gp55を用いた解析を行った。

1) EpoRとの結合を司っていると考えられるPT*env* 配列がF-MuLVのET*env* 配列に置換され、脾過形成誘導能が失われている変異株F-SFFV (SFFV_{MS}) よりの復帰ウイルス株誘導実験を行った。多数の復帰株のうち、*in vivo*, *in vitro* において野生株より若干弱い生物活性を示す株の *env* 領域の単離、塩基配列解析の結果、この復帰株は別のF-MuLVのET*env* 配列を持つgp55をコードしている事が明らかになった。これよりPT*env* 配列にのみ存在する特異配列はgp55の生物活性発現に必須ではなく、PTとETの両 *env* 配列に共通して存在する配列の重要性が示された。2) PT*env* 配列をxenotropic (XE) MuLV *env* 配列で置換した変異gp55は野生型gp55と同程度の生物活性を発現した。これより、PT*env* 配列のみ存在し、PT MuLVの特異的な感染受容体との統合に関与するサブドメイン (element I) の配列は、gp55の生物活性発現には不要であることが示された。3) フレームシフトを伴う1塩基挿入の結果、野生型gp55はエンベロープ蛋白質に存在するC末端の細胞内ドメインを失っている。この失った領域を補い、脾過形成誘導能のない変異gp55 (S34 gp55) に関し *in vitro* 細胞系での解析を行った。S34 gp55はEpoRを活性化せず、EpoRとの結合能も欠損していた。また、ホモ二量体形成効率も低下し

ており、ゴルジ体での糖鎖の修飾を受けた分子種が検出されなかった。これより野生型gp55におけるC末端の欠失は、EpoRとの結合、ホモ二量体形成、細胞表面膜へのプロセシングのいずれにも関与している事が示された。

以上より、gp55の一次構造における各部分配列の生物活性に対する寄与が明らかにされた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

フレンド脾限局巣誘発ウイルス (F-SFFV) のコードする白血病原性蛋白質であるgp55は、レトロウイルス粒子形成に必須の *env* 遺伝子に由来しており、この点で他のレトロウイルス腫瘍原性遺伝子産物とは異なっており、レトロウイルスと細胞、個体との相互作用を考える上で極めて興味深い蛋白質である。本研究においては、感染動物個体におけるレトロウイルスの高頻度な自発的突然変異性を利用して、gp55の一次構造とその生物機能との相関を *in vivo*, *in vitro* において詳細に解析し、生物機能発現に重要な部分配列を限定した。本研究は、国際的に高く評価されるものであり、今後のより生化学的な解析の基礎となるものである。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。