

論文の内容の要旨

論文題目：JC ウイルスの進化と伝播様式に関する研究

指導教官： 北村 唯一 教授

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻

平成 11 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名：鄭 懷穎

1. はじめに

JC ウイルス (JCV) は 1971 年に Padgett らにより進行性多巣性白質脳症 (PML) の患者の脳からはじめて分離された。その後、JCV に対する血中抗体の調査が行われ、このウイルスはヒト集団で蔓延していることが判明した。1990 年に Kitamura らは、JCV が頻繁に健常人の尿中に排泄されていることを発見した。その後、尿中 JCV DNA を用いた JCV に関する様々な研究が行われた。以下にその概略を述べる。

尿 JCV を用いて、JCV の伝播様式が検討された。例えば、Kunitake らは 7 家族の親と子から尿を採取し、尿 JCV DNA の 610 bp 配列を解析した。家族が異なると、塩基配列に違いがあったが、同じ家族の子と親 (父または母) の間では塩基配列が一致する例が半数に達した。この研究と他の伝播様式に関する研究 (Kato ら,1997 ; Suzuki ら,2002) から、子供は通常、一緒に生活している成人 (普通は親) の排出する JCV に感染することがわかった。

PML 患者の脳からの JCV DNA の調節領域 (以下、PML 型調節領域という) は多

様に変化している。Yogo らは尿から分離される JCV DNA は一定の調節領域（原型調節領域）を持っていること、そして、多様な PML 型調節領域は原型調節領域から塩基配列の再編成（欠失や重複）により作られることを明らかにした。

Sugimoto らは世界各地から集められた尿から回収された JCV DNA を分子系統解析することにより、世界中の JCV は 10 以上の地域特異的なゲノム型に分かれることを明らかにした。JCV ゲノム型の分布パターンは、JCV がヒト集団に伴って分化し、移動したことを示していると考えられた。このことから、JCV ゲノム型がヒト集団の移動や成り立ちを解析するための指標となることが示唆された。

以上の研究成果を背景にして、JCV 研究を一層発展させるために、日本人・韓国人とアメリカ先住民から検出された JCV の系統関係の解明（研究 1）と JCV の宿主個体内変異と伝播の解明（研究 2）を行った。

2. 日本人・韓国人とアメリカ先住民が保有する JCV の系統解析（研究 1）

特異な地理的な分布パターンを示す MY 型 JCV の系統関係を明らかにするために、日本人、韓国人、メキシコ、グアテマラ、ペルー先住民族（以上 Amerind 語族）、カナダの先住民族（Na-Dene 語族）の尿から全長 JCV DNA をクローニングし、各ヒト集団あたり 4-6 個の JCV DNA クローンの全長塩基配列を決定した（計 26 個）。これらの配列やアメリカ合衆国の Navaho 族（Na-Dene 語族）からの MY 型 JCV 配列や他のゲノム型に属する世界中の JCV 全長配列から近隣結合法により分子系統樹を作成した。

この系統樹において、MY 型 JCV の大部分は 7 クラスター（MY-a~MY-g）に分かれた。各クラスターに対するブートストラップ確率（BP 値）はいずれも高かった（96~100%）。MY-a と MY-b は日本、韓国からの株のみを含んだ。MY-c は主にメキシコ先住民からの株を含んだ。MY-d は Navaho 族からの株のみを含んだ。MY-e は主にグアテマラ先住民からの株を含んだ。MY-f はペルー先住民からの株のみを含んだ。MY-g は主にカナダ先住民からの株を含んだ。

本研究結果は、ヒト集団の分岐と移動に伴って MY 型 JCV が進化したことを示唆し

ている。JCV がヒト集団にリンクして進化した例は MY 以外のゲノム型においても観察されている。例えば、以前、ヨーロッパと地中海沿岸地域に特有なゲノム型とされていた EU-a が、北東シベリア、北極圏、日本にも分布することが最近明らかにされた。Sugimoto らは EU-a に属する世界中の JCV 株を系統解析し、EU-a が各ヒト集団に特有なクラスターへと細分化されたことを示した。本研究結果及び Sugimoto らの結果を基に、私は人類集団と JCV の進化との関連を次のように推定した。「人類集団は移動の際にいつも JCV と連れ添った。人類集団が別々の集団に分岐するときは、JCV はそれぞれの集団に分かれて付いていった。そして、長い年月の間に、JCV はそれぞれの集団の中で独特なゲノム型へと進化した。」

アメリカ先住民は Amerind、Na-Dene、Eskimo-Aleut という 3 語族に分類される。しかし、Amerind と Na-Dene から同じゲノム型 (MY) が検出されたことは、固有の JCV からは、Amerind と Na-Dene は区別されないことを示している。一方、Amerind と Na-Dene が MY を持つのに対して、Eskimo-Aleut は EU-a を持つ。JCV を 3 型 (A、B、C) に分ける大分類によると、MY は B 型に属し、EU-a は A 型に属す。したがって、固有の JCV によって、Amerind/Na-Dene と Eskimo-Aleut とは明瞭に区別された。

3. JCV の宿主個体内の変異と個体間の伝播 (研究 2)

JCV が親から子へ伝播したと思われる親子のペア (5 家族) を選択し、親と子の尿から全長 JCV DNA をクローニングし、得られた多数のクローンの全長配列を決定した。親、子それぞれにおいて、個体内 JCV 全長配列の比較を行い、また、親子間での全長塩基配列の比較を行った。また、親子の JCV 株の間の系統関係を解明するために、親子からの JCV 全長塩基配列 (調節領域を除く) から近隣結合法により分子系統樹を作成した。また、一症例ではあるが、PML 患者の中樞神経系における JCV DNA の変異についても検討した。

(1) 5 家族のうち 4 家族の親と 3 家族の子で、塩基置換または再編成有する株 (変異株) が検出された。(2) 5 家族のうち 4 家族で原株が子供に伝播し、1 家族で変異

株が子供に伝播した。以上の結果から、原株が次世代へ伝播する場合と変異株が次世代へ伝播する場合があるが、原株が伝播することが多いと示された。

PML 患者の脳の 3 領域（後頭葉、小脳、脳幹）からクローニングされた多数のクローンの塩基配列を解析し、以下の結果を得た。（1）脳から 5 つの再編成型調節領域（I～V）が検出された。（2）少数の例外を除いて、調節領域の配列が違ってても、コード領域の配列は全く同じであった。（3）調節領域 I を持つ JCV DNA クローンは脳の 3 領域全てから得られた。これらのクローンの中で、コード領域の塩基配列は完全に一致した。以上の結果から、JCV が原型から PML 型へ変化する過程でも、JCV 感染が中枢神経系で拡大する過程でも、JCV ゲノムのコード領域にはほとんど変異が起きないことが示された。

4. まとめ

全長配列を用いた系統解析により、日本人・韓国人とアメリカ先住民から検出された MY 型 JCV 株は 7 つのクラスター（MY-a～MY-g）に分かれた。日本人と韓国人から分離された株は MY-a と MY-b に属し、アメリカ先住民から分離された株は MY-c～MY-g に属した。このことから、JCV がヒト集団と共に分化し、移動したことが示唆された。

宿主個体内で持続感染している JCV 株（原株）から時として変異株が出現することが明らかになった。原株が次世代へ伝播する場合と変異株が次世代へ伝播する場合があるが、原株が伝播する場合が多いことも明らかになった。PML 型 JCV DNA の調節領域は劇的に変化するが、そのコード領域は安定であることが示唆された。