

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 3日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22780272

研究課題名（和文）筋血管周皮腫形成へのパピローマウイルスの関与について

研究課題名（英文）A molecular and epidemiological study on myopericytoma in cattle and its association with bovine papillomavirus infection.

研究代表者

島間 真一（HATAMA SHINICHI）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所・寒地酪農衛生研究領域・主任研究員

研究者番号：50360623

研究成果の概要（和文）：

牛における筋血管周皮腫（MPC）の発生と、牛パピローマウイルス1型（BPV-1）の感染との関連性を明らかにした。さらに MPC 発生の分子メカニズムの解明を試み、BPV-1 由来転写調節因子 E2 と牛細胞由来 bTax1BP1 タンパクが複合体を形成し、これらがウイルスプロモーターを活性化していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We represented epidemiological evidence for bovine papillomavirus (BPV) type 1 infection of a benign tumor, myopericytoma, in cattle. Molecular mechanisms of myopericytoma formation were also analyzed. We revealed that protein-protein interaction with the virus-encoded transcriptional regulator, E2, and host cell-derived transcriptional coactivator, bTax1BP1, plays an important role in the transcriptional activation of the BPV promoter.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：獣医学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用獣医学

キーワード：牛パピローマウイルス、筋血管周皮腫、牛乳頭腫症、E2、bTax1BP1

## 1. 研究開始当初の背景

筋血管周皮腫（MPC）は人の四肢遠位部に好発する良性の軟部組織腫瘍である。まれに口腔内や胸部内、頸部に発生したり、悪性化したりするケースが報告されている。犬や

ラットにも MPC の発生が確認されており、これらの動物では悪性化して死亡する。上述した動物以外での発生報告はなく、原因や形成機序に関しても未解明である。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、牛の軟部組織腫瘍を多数収集し、診断する中で、わが国の牛に MPC が発生していることを明らかにする。また、牛 MPC と人 MPC との臨床疫学的、組織学的な相違を比較解析することで、牛 MPC の病態の特徴を明らかにする。さらに、腫瘍ウイルスとして知られている牛パピローマウイルス (BPV) が MPC 形成へ関与するかどうかについて分子疫学的な調査を行うとともに、どのような分子メカニズムによって MPC 形成に関与するかについて解析を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) 診断、病態解析、原因学的解析

100 検体以上の牛の軟部組織腫瘍を外科的に摘出し、それぞれ組織学的検査や、免疫組織化学的検査、PCR 検査、シーケンス解析を行った。

### (2) タンパク質間相互作用の解析

BPV 1 型 (BPV-1) E2 タンパクと宿主由来 bTax1BP1 とを培養細胞で共発現させ、共免疫沈降解析によって両タンパク質の複合体形成能を調べた。またベクターに組み込まれた E2 や bTax1BP1 の DNA 断片を分解して種々の大きさの断片を含むクローンを作製し、それらを用いて共免疫沈降解析を行うことで複合体形成部位を解析した。

### (3) ウイルスプロモーターに対する作用の解析

E2 や bTax1BP1 の存在下もしくは非存在下でのウイルスプロモーターの活性を、ルシフェラーゼレポーター遺伝子の発現により測定した。

## 4. 研究成果

牛 MPC を世界で初めて診断し、その組織学的特徴や発生の疫学が人 MPC と類似することを明らかにした。人 MPC の原因は不明であるが、牛 MPC の発生には BPV-1 の感染が関与することが強く示唆された。

牛 MPC 病変から検出される BPV-1 には、そのゲノムの初期遺伝子領域に変異型 E2 がコードされていた。E2 の本来の機能は転写調節タンパクであることから、MPC では既報の BPV-1 と異なる変異型 E2 が発現することによって、感染細胞における特徴的な転写制御

が行われていると考えられる。

そこで、MPC 形成の分子メカニズムを明らかにするため、BPV-1 感染細胞内における変異型 E2 の動態を解析した。ほ乳類細胞中での動態を蛍光顕微鏡で観察したところ、細胞質で発現した E2 が N 末端側配列の働きによって核内に移行することがわかった。

次に E2 と細胞内で相互作用する分子を探索したところ、人の Tax1BP1 タンパクに相同性を持つ牛の細胞内因子 bTax1BP1 と複合体を形成することがわかった。この複合体形成に、E2 の N 末端側 1-220 アミノ酸残基が重要な役割を果たしていた。bTax1BP1 は非感染細胞の細胞質内に存在するタンパクであるが、感染細胞中で E2 と複合体を形成することによって核内に移行し、BPV-1 のウイルスプロモーター領域にリクルートされ、E2 と協調的に転写調節を行っていると考えられた。

bTax1BP1 はさらに牛白血病ウイルス (BLV) の癌タンパク Tax とも相互作用する可能性があるため、今後 bTax1BP1 によるウイルスの転写制御機構を調べることによって、MPC 形成機序の解明のみならず、BPV-1 と BLV との重複感染による活性化機序の解明につながることを期待される。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

1. Shinichi Hatama, Ryoko Ishihara, Yasuko Ueda, Toru Kanno, Ikuo Uchida, Detection of a novel bovine papillomavirus type 11 (BPV-11) using xipapillomavirus consensus polymerase chain reaction primers, Archives of Virology, 156, 1281-1285, 2011 査読有 DOI: 10.1007/s00705-011-0970-7
2. Shinichi Hatama, Cutaneous papillomatosis in cattle, Journal of Disaster Research, 7(3), 319-323, 2012 査読有 <http://www.fujipress.jp/finder/xslt.php?mode=present&inputfile=DSSTR000700030010.xml&xslparam=ref%7Cjscript>
3. Wei Zhu, Jianbao Dong, Erika Shimizu, Shinichi Hatama, Koichi Kadota, Yoshitaka Goto, Takeshi Haga. Characterization of novel bovine papillomavirus type 12 (BPV-12) causing epithelial papilloma, Archives of Virology, 157, 85-91, 2012 査

読有

DOI: 10.1007/s00705-011-1140-7

4. 梶間真一、きちんと知っておきたい牛の感染症 牛乳頭腫症、Dairy Japan、55(15)、64-65、2010 査読無
5. 梶間真一、常在化する感染症を知り、日頃の衛生対策で被害削減を、酪農ジャーナル、65(8)、12-14、2012 査読無
6. 梶間真一、牛パピローマウイルスを効率的に検出する PCR 法の開発、動衛研ニュース、47、6-7、2012 査読無
7. 梶間真一、酪農現場で多発している牛乳頭腫症とその対策法、酪農ジャーナル、65(3)、21-23、2012 査読無
8. 梶間真一、家畜疾病図鑑 牛乳頭腫症、日本農業新聞、16253、16 面、2012 査読無
9. 梶間真一、牛乳頭腫症の発生状況と防除対策 上、全酪新報、2174、6 面、2012 査読無
10. 梶間真一、牛乳頭腫症の発生状況と防除対策 下、全酪新報、2175、3 面、2012 査読無

[学会発表] (計 6 件)

1. Shinichi Hatama, Michiko Sakakibara, Ryoko Ishihara, Satoko Watanabe, Koichi Kadota, Yukino Tamamura, Ikuo Uchida. Epidemiology, clinical characteristics and prevention measures for bovine papillomavirus type 9 induced papillomatosis, 9th International Congress of Veterinary Virology, 2012 年 9 月 6 日, スペイン・マドリッド
2. 梶間真一、牛乳頭腫症発生の現状とこれまでの取り組みについて、全酪連北海道府県畜産主任者会議、2012 年 8 月 3 日、北海道札幌市
3. Shinichi Hatama, Ryoko Ishihara, Toru Kanno, Shinji Yamamoto, Kiriko Uchida,

Kenji Murakami, Yoshiharu Ishikawa, Koichi Kadota. Detection of bovine papillomavirus type 2 DNA in calf corneal myofibroblastoma、27th World Buiatrics Congress 2012, 2012 年 6 月 6 日, ポルトガル・リスボン

4. Shinichi Hatama, Ryoko Ishihara, Toru Kanno, Yoshiharu Ishikawa, Koichi Kadota, Epidemic of bovine cutaneous myopericytomas in cattle in Japan and identification of their diagnostic characteristics, 26th World Buiatrics Congress 2010, 2010 年 11 月 17~18 日, チリ・サンチアゴ
5. 橋本菜穂、河野弘憲、久富一郎、石川幸治、董建宝、芳賀猛、梶間真一、牛パピローマウイルス 1 型が検出された膀胱を病変とする牛乳頭腫症、第 39 回九州地区食肉衛生検査所協議会、2010 年 10 月 28-29 日、福岡県北九州市
6. 梶間真一、牛乳頭腫症の発生状況と疾病防遏に向けた取り組み、第 6 回東北地域放牧衛生担当者会議、2010 年 10 月 7 日、青森県七戸町

[図書] (計 2 件)

1. Shinichi Hatama, Genus Epsilonpapilloma-virus, Papillomaviridae. In The Springer Index of Viruses Second Edition, Tidona, C. A., Darai, G. (eds) Springer Press, 3, 1089-1092. DOI: 10.1007/978-0-387-95919-1
2. Shinichi Hatama, Genus Xipapillomavirus, Papillomaviridae. In The Springer Index of Viruses Second Edition, Tidona, C. A., Darai, G. (eds) Springer Press, 3, 1089-1092. DOI: 10.1007/978-0-387-95919-1

[その他]

財団法人農学会ホームページ  
第 10 回日本農学進歩賞受賞  
<http://www.nougaku.jp/award/award2.2010.htm>  
研究業績課題名：新型牛パピローマウイルス感染症の病態解明と防除法の開発

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

梶間 真一 (Hatama Shinichi)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構  
動物衛生研究所・寒地酪農衛生研究領域  
主任研究員

研究者番号：50360623

### (2)連携研究者

明石 博臣 (Akashi Hiroomi)

国立大学法人東京大学・農学生命科学研究科  
教授

研究者番号：10334327