

～進行性多巣性白質脳症～

JC ウイルスの感染が誘導する脱髄脳症発生のメカニズム

穴戸-原由紀子

杏林大学医学部病理学

研究要旨

進行性多巣性白質脳症は、JC ウイルスが中枢神経系の乏突起膠細胞に感染し、髄鞘崩壊を誘導して発症する。病理組織学的に、感染した乏突起膠細胞の腫大核には、核全体を占める JC ウイルス封入体 (full inclusion) が認められ、病理診断の指標とされてきた。さらに近年我々は、感染初期にはドット状の封入体 (dot-shaped inclusions) も存在することを発見した。この封入体は、JC ウイルスがドット状の核内ドメイン、PML-NBs に集積するために形成される。PML-NBs は、グリア細胞の腫大化核において、S から G2 期様への細胞周期の移行に伴い腫大することも明らかになった。JC ウイルスは、この腫大化する PML-NBs を足場に複製し、その後 PML-NB 構造を崩壊して核全体を占める封入体を形成する。PML-NBs の機能破綻が、乏突起膠細胞の細胞変性と、さらなる脱髄を誘導する可能性が考えられる。

【研究の背景と目的】

進行性多巣性白質脳症 (Progressive multifocal leukoencephalopathy) は、JC ウイルス感染による脱髄疾患である。JC ウイルスは人口の約 70% に持続・潜伏感染し、免疫能の低下した宿主において再活性化して、重篤な脱髄脳症を発症させる。かつて、JC ウイルスは腎に潜伏し、調節領域の遺伝子変異により転写活性が上昇した変異ウイルスのみが脳に移行して脱髄脳症を発症させると考えられていた (図 1 A)。しかし、骨髄、扁桃の他、正常脳組織からも遺伝子変異をきたした JC ウイルスが検出され、現在では正常脳組織にも JC ウイルスが持続・潜伏感染しているとも考えられている (図 1 B)。また本疾患では、乏突起膠細胞の腫大核に見られるウイルス封入体

(full inclusion) の検出が病理組織学的診断の指標となる。しかし、JC ウイルスがどのようなメカニズムで、乏突起膠細胞の核内にウイルス封入体を形成し、感染細胞の変性と脱髄を誘導するのか明らかではない。

近年我々は、JC ウイルスが乏突起膠細胞のドット状の核内ドメイン、promyelocytic leukemia nuclear bodies (PML-NBs) を標的に感染することを明らかにした (文献 1-4)。PML-NBs は、真核細胞が有するドット状の核内構造で、DNA 複製や転写、細胞周期制御や腫瘍抑制、クロマチン制御など様々な核機能に関与することが知られている。JC ウイルスは、感染初期に PML-NBs を足場に子ウイルスを産生して、まずドット状の封入体 (dot-shaped inclusions) を形成する。その後、ウイルスが細胞核全体へ広がり full inclusion を形成すると考えられる。本研究では、核内ウイルス封入体形成過程における細胞周期関連蛋白の発現と、PML-NBs の形態変化を、乏突起膠細胞の腫大化核の核面積と関連して解析した。

【方法】

病理解剖で得られた進行性多巣性白質脳症の脳組織片は、通常の方法で組織切片を作成した。細胞周期関連蛋白 (PCNA, cyclin A, その他) の発現を免疫組織化学的に検討した。また、画像解析ソフトを用いて、陽性細胞の核面積と、PML-NBs を有する細胞の核面積、PML-NBs の直径を測定した。さらに、JC ウイルスカプシド蛋白と PML-NBs の主要構成成分である PML 蛋白を蛍光二重染色を行い、共焦点顕微鏡や超解像顕微鏡で解析した。電子顕微鏡による解析も行った。

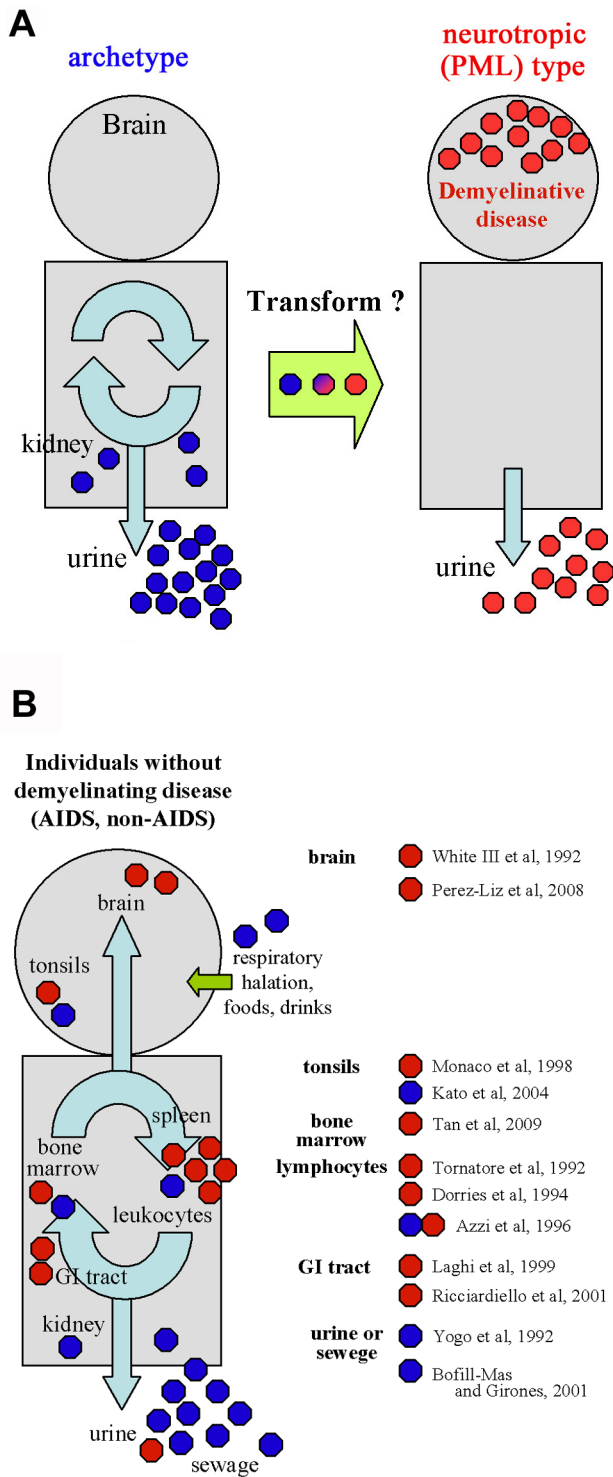


図1 JCウイルスの潜伏・持続感染と脱髄脳症発生のメカニズム
A: JCウイルスは人口の約70%に持続・潜伏感染している。かつて、感染性の低いJCウイルス(青: archetype)が人口に蔓延して、感染者の腎臓に潜伏・持続感染し、調節領域の遺伝子変異により転写活性が上昇した変異ウイルス(赤: neurotropic type)のみが脳に移行して、脱髄脳症を発症させると考えられていた。

B: しかし、健常者の腎のみならず、骨髄、脾臓、消化管、扁桃、さらに脳組織から、achetypeやneurotropic typeのJCウイルスが検出され、JCウイルスの潜伏・持続感染メカニズムについては議論が続いている。(文献2より引用)

【結果】

進行性多巣性白質脳症の脳組織において、乏突起膠細胞の核は脱髄・変性の進行に伴い腫大していることが明らかになった。また、細胞周期関連蛋白の発現は核面積に応じて変化していた。分裂細胞S期に高発現するPCNAは、JCウイルス感染細胞の比較的小型核(核面積約30 mm²)に陽性となり、S期～G2期に発現が増加するcyclin Aは大型核(核面積約70 mm²)に陽性となった。JCウイルスVP1蛋白陽性細胞は、PCNA・cyclin Aと一致した二峰性の核面積ピークを示した。また、PML-NBsは、小型核(核面積約30 mm²)では直径約0.2 mmの顆粒状で、大型核(核面積約70 mm²)では直径約1.0 mm以上の二次元でリング状、三次元で球状の構造を示していた。超解像顕微鏡(SIM, GSD)で観察すると、JCウイルスカプシド蛋白は、大型PML-NBsの外側に集積しており、電子顕微鏡でも、これに相当するJCウイルス粒子のリング状配列が確認された。

【考察】

これらの結果から、JCウイルスに感染した乏突起膠細胞は、DNAウイルス複製に有利なS期類似の核内環境を提供し、その後G2類似の状態で活発にウイルス増殖を支持すると考えられる。この過程で、PML-NBsは細胞核内環境の変化に応じて腫大化し、ウイルス増殖の足場を提供する。ウイルスは、PML-NBsを足場にドット状の封入体を形成した後、やがて核全体へと分布し、PML-NBsを崩壊・消失すると考えられた(図2)。

【結論】

JCウイルスに感染した乏突起膠細胞では、PML-NBsがウイルス複製の足場を提供し、その後崩壊・消失する。真核細胞の核機能に重要な役割を果たすPML-NBsの崩壊・消失が、乏突起膠細胞の変性、および脱髄を導くのではないかと推測される。

参考文献

- Shishido-Hara, Y., Ichinose, S., and Uchihara, T. JC virus intranuclear inclusions associated with PML-NBs: Analysis by electron microscopy and structured illumination microscopy (SIM). *Am J Pathol*, 2012 180(3): 1095-1106
- Shishido-Hara, Y. Progressive multifocal leukoencephalopathy and promyelocytic leukemia nuclear bodies: a review of clinical, neuropathological, and virological aspects of JC virus-induced demyelinating disease. *Acta Neuropathol*, 2010 120(6):403-417
- Shishido-Hara, Y., Higuchi, K., Ohara, S., Duyckaerts, C., Hauw, J-J and Uchihara, T. Promyelocytic Leukemia Nuclear Bodies Provide a Scaffold for Human Polyomavirus JC Replication and Are Disrupted after Devel-

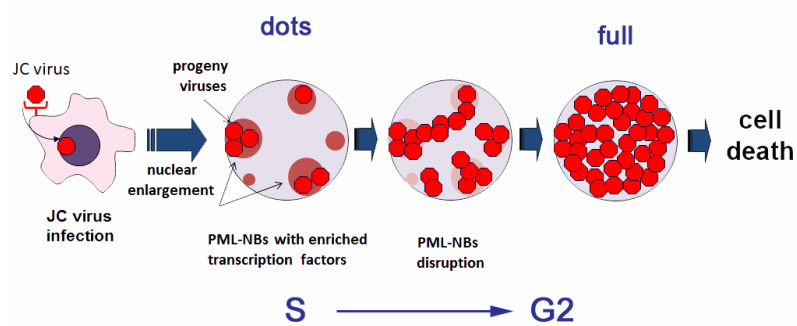


図2 JC ウイルスの核内ウイルス封入体形成メカニズム
 乏突起膠細胞は、核の腫大化に伴い、S 期類似から G2 類似の状態へ核内環境を変化させる。この過程で、PML-NBs は腫大化し、ウイルス増殖の足場を提供する。PML-NBs を足場にドット状の封入体を形成したウイルスは、やがて核全体へと分布し、PML-NBs を崩壊・消失すると考えられる。

opment of Viral Inclusions in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy
J Neuropathol & Exp Neurol 2008 67: 299-308

4. Shishido-Hara Y, Ichinose S, Higuchi K, Hara Y, Yau K. Major and Minor Capsid Proteins of Human Polyomavirus JC Cooperatively Accumulate to Nuclear Domain 10 for Assembly into Virions.
J Virol, 2004 78: 9890-9903

Publication list

1. Shishido-Hara, Y., Ichinose, S., and Uchihara, T. JC virus intranuclear inclusions associated with PML-NBs: Analysis by electron microscopy and structured illumination microscopy

(SIM). *Am J Pathol*, 2012 180(3): 1095-1106

著書 (分担)
 1. Shishido-Hara, Y. Progressive multifocal leukoencephalopathy In Encyclopedia of Neurological diseases, *in press*

講演記録
 穴戸 - 原 由紀子
 進行性多巣性白質脳症の核内ウイルス封入体 –JC ウイルス感染の標的 PML-NBs の病理学的な意義 -
 第 58 回日本病理学会秋期特別総会 A 演説 (学術研究賞受賞講演平成 24 年 (2012 年) 11 月 23 日 名古屋