

総 説

ウイルスによる分子海賊：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスによるユビキチンシステムとシグナル伝達の脱制御

藤 室 雅 弘¹⁾, 南 亮 介²⁾, 鈴 木 千 恵²⁾,
金 井 晋 太 郎²⁾, 山 田 浩 二²⁾, 平 敬 宏¹⁾

¹⁾ 山梨大学大学院医学工学総合研究部 分子細胞生物学

²⁾ 北海道大学大学院薬学研究院 生化学

要 旨：ヒトがんウイルスであるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) は、8 番目のヒト・ヘルペスウイルスとして同定され、AIDS 関連のカポジ肉腫、原発性体腔液性リンパ腫や多発性キャッスルマン病において高頻度に検出される。KSHV は、宿主細胞のシグナル伝達や蛋白質分解機構、さらにそれらを制御するユビキチン化修飾系を脱制御することで、遺伝子発現操作、アポトーシス阻害、抗原提示阻害を行い、細胞内をウイルスにとっての好環境に再構築する。この様な、ウイルス性蛋白質が細胞性の制御因子として機能し、細胞機能を活性化または破綻させる行為を海賊の乗っ取り行為に例え、Molecular Piracy (分子海賊行為) と呼ぶ。本総説では、KSHV のウイルス戦略、すなわち KSHV の分子海賊行為による細胞内シグナル伝達とユビキチンシステムの脱制御について解説したい。

キーワード カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス、ヒト・ヘルペスウイルス 8 型、ユビキチン、プロテアソーム、シグナル伝達

はじめに

ヒトに感染するヘルペスウイルスとして、8 種類のヘルペスウイルスが確認されている。カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: KSHV) は、8 番目に発見されたことからヒト・ヘルペスウイルス 8 型 (human herpesvirus 8: HHV-8) と呼ばれる。KSHV は、エイズ関連のカポジ肉腫や原発性体腔液性リンパ腫 (Primary effusion lymphoma: PEL) において高頻度に検出され、現在、がんウイルスとして認識されている^{1,2)}。

がんウイルスによる宿主発がんのメカニズムは多種多様で、ウイルス性因子と細胞性因子両者の相互作用をうまく利用したものが多。事実、KSHV ゲノムがコードする遺伝子産物には、細胞増殖亢進、抗アポトーシス、トランスフォーム、免疫回避に関連するものが多数含まれている^{3,4)}。また、KSHV は、宿主のシグナル伝達やユビキチン化修飾 (ユビキチンシステム) を巧みに利用して、最小限のウイルス遺伝子産物で感染維持や病原性発現のためウイルスと細胞ゲノムの転写制御を行なう。本稿では、今までに明らかにされた KSHV 遺伝子産物と細胞性蛋白質の相互作用による遺伝子発現の制御およびユビキチンシステムの制御について、我々の研究成果も含めて紹介したい。

¹⁾ 〒 409-3898 山梨県中央市下河東 1110

²⁾ 〒 060-0812 北海道札幌市北区北 12 条西 6 丁目

受付：2009 年 3 月 23 日

受理：2009 年 4 月 7 日

I. KSHV とは

1. KSHV の発見

カポジ肉腫は、1872年にハンガリーの皮膚科医 Moritz K. Kaposi により、皮膚に生じる多発性の色素斑性肉腫として初めて報告された⁵⁾。その10年後、Giraldoらはカポジ肉腫の培養組織からヘルペスウイルス様粒子を同定した⁶⁾。また、疫学調査により明らかにされたカポジ肉腫の地域的偏在性は、伝染性の病原因子がカポジ肉腫発症の引き金であることを示唆していた。そして1994年、Changらによりエイズに合併したカポジ肉腫より病原因子の本体、すなわち、KSHVが特定された⁷⁾。KSHVは γ -2ヘルペスウイルス亜科 (rhadinovirus 属) に分類され、8番目に発見されたヒト・ヘルペスウイルス (科) であることからヒト・ヘルペスウイルス8型 (HHV-8) とも呼ばれる。彼女らは同一エイズ患者における正常皮膚組織とカポジ肉腫組織とを比較して、肉腫に特異的に存在する遺伝子を探索・単離した。その結果、同定された遺伝子断片のDNA配列は γ -1ヘルペスウイルス亜科 (lymphocryptovirus 属) のEBVや、KSHVと同属 (rhadinovirus) のherpesvirus saimiri (HVS) と相同性を持っていた。また、EBVとHVSは共に発がんウイルスであることから、KSHVは発がん性の新規ヘルペスウイルスであると考えられた。後に、PEL細胞からKSHVの全遺伝子配列が決定された⁸⁾。

ヒト体内において、KSHVはB細胞と血管内皮細胞に潜伏感染することが明らかにされている^{1,2)}。しかし、KSHVのヒト初感染時の標的器官や細胞、さらに初感染成立後、どのような機構でB細胞に再感染するのかは不明である。また、KSHVのトロピズム (細胞指向性) を決定する細胞のウイルスレセプターは明確ではない。しかし、KSHVは他のヘルペスウイルス同様、細胞膜のヘパラン硫酸に親和性を有している。また、KSHVは細胞のインテグリン α 3 β 1やxCT (cystine/glutamate exchange transporter-x) と結合するという報告もある^{9,10)}。

KSHVの潜伏感染者の割合は、アフリカでは50%以上で、イタリアと北米では10%程度、日本国内では4%以下^{1,11)}と報告されている。KSHVの伝播経路は、唾液や粘膜分泌液を介した経口感染、性交渉等による接触感染、または母子感染が多い。他のヘルペスウイルス同様に、KSHVは健常者に感染しても重篤な疾患を伴わないまま潜伏感染する。KSHVは標的細胞に吸着・侵入後、脱核して2本鎖DNAとして感染細胞核内で維持される。KSHV潜伏感染時、KSHV遺伝子は両側のターミナルリピートが繋がった環状2本鎖DNA (エピゾーム) として存在し、ウイルスの再活性化により溶解感染 (lytic infection) に移行し、ウイルスの複製を開始する。なお、KSHVのエピゾーム維持にはウイルス蛋白質LANA (ORF73) が、KSHVの再活性化には転写スイッチ分子であるRTA (ORF50) が必須である。

2. KSHV ゲノムとその発現制御

KSHVゲノムは、約170 kbpの遺伝子配列をもち、両側を繰り返し配列 (terminal repeat) に挟まれた約90個のORF (open reading frame) を有している (図1⁸⁾)。KSHVのORFは、HVSのORFとの相同性に対応させてORF4-ORF75と分類され、また、KSHVに特徴的なORFはK1-K15と名付けられた。KSHVは、宿主細胞内で、潜伏感染 (latent infection) と溶解感染 (lytic infection) の2種類の感染様式で存在する。KSHVがコードするORFも、latent期とlytic期の発現時期で区別され、潜伏感染期遺伝子 (latent gene) と溶解感染期遺伝子 (lytic gene) に分類されている^{2,8)}。他のヘルペスウイルスと同様に、KSHVのlytic geneは、その発現時期によって、前初期 (immediate early: IE)、初期 (early)、後期 (late) 遺伝子に分類されている。KSHVのlatent geneは、vFLIP/ORF71/K13、vCyclin/ORF72、LANA/ORF73、K12/Kaposin、K10.1、K15、およびLANA2/10.5である。ORF71/K13、ORF72、およびORF73は、KSHVゲノム上に

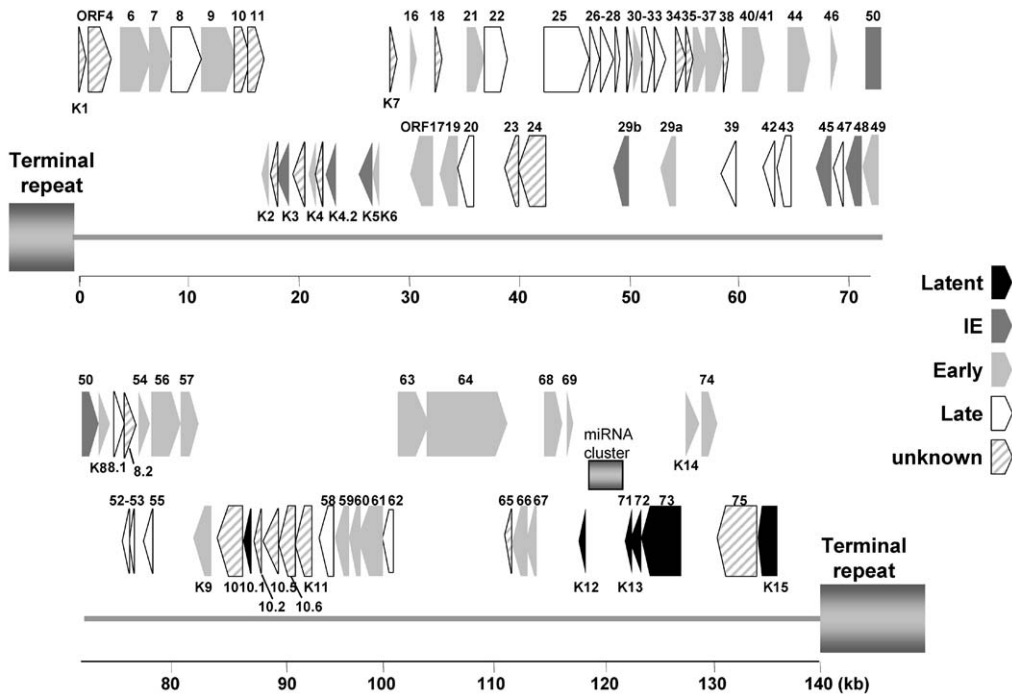


図1. KSHV ゲノム

KSHVがコードする各遺伝子、転写方向、発現時期（latentとlytic-immediate early (IE), lytic-early (Early), lytic-late (Late))を三角形（または五角形）で図示し、遺伝子名（ORF4-75は上に、K1からK15は下に）を記した。K12とK13/ORF73の間に位置するmiRNA clusterに、12種類のmicroRNAがコードされている。

タンデムに位置し、同じプロモーターによる発現調節を受け、同一の転写開始点から一つのmRNAとして転写される。転写産物には、ORF71、72および73の全てを含むLT1と、ORF71と72を含みORF73を欠失したプライズドバリエーションLT2の2種類のmRNAがある。ORF73にコードされるLANA (Latency-associated Nuclear Antigen) は、KSHV関連腫瘍で最も強く発現する核蛋白質である。また、LANAはKSHVのエピゾーム維持と細胞不死化という2つの重要な機能を有している。LANAはそのC末端領域でエピゾームのターミナルリピートの特定の配列に結合し、LANAのN末端領域は宿主クロマチンのヒストンH2A-H2Bと結合する¹²⁾。このLANAを介したエピゾームとクロマチンとの結合がエピゾームの複

製と安定化に必須である^{13,14)}。

KSHV潜伏感染PEL細胞をTPA等のホルポールエステルやIL6等で刺激すると、KSHVは溶解感染へと移行する。この溶解感染移行のためのトリガーとして機能するウイルス性因子が、前初期遺伝子(IE)産物のRTA (replication and transcription activator)/ORF50である。RTAは、RTA自身のプロモーターや、early遺伝子のORF9 (DNAポリメラーゼ)、K2/vIL6、ORF21 (チミジンキナーゼ)、ORF57/Mta、K8/RAP、K9/vIRF1およびK12 (Kaposin)のプロモーターに結合し、KSHVのearly遺伝子を発現させるための転写因子として機能する。この他、溶解感染移行後に、early遺伝子として、K3/MIR1、K5/MIR2、ORF56、59 (DNA複製因子)、ORF19、63、64、67 (テグメント

蛋白質), ORF16/vBc12 (Bc12 ホモログ), MIP-I ホモログである K4/MIP-II, K6/vMIP-I, ORF74/vGPCR 等が発現する。溶解感染期の late 遺伝子産物は主にキャプシド蛋白質と糖蛋白質である。

3. KSHV 関連疾患

KSHV の潜伏感染は, エイズ関連型の PEL や多発性キャッスルマン病 (Multicentric castleman's disease: MCD) において, 極めて高い確率で検出され, それらの発症に深く関与していると考えられている^{1,2)}。また, KSHV はエイズ関連, 非関連のどちらのカポジ肉腫でも, ほぼ 100% の確率で潜伏感染している。カポジ肉腫では, CD34 と共に, リンパ管内皮増殖因子受容体 3 (VEGFR3), angiopoietin-2 (ANG2) などのリンパ管内皮細胞のマーカーを発現している。カポジ肉腫は, KSHV 感染 B 細胞や直接ウイルス粒子によって感染した血管内皮細胞およびリンパ管内皮細胞から発生し, 紡錘状細胞 (スピンドル細胞) へと分化して形成される。その過程で, KSHV 感染内皮細胞は, PROX1 等のリンパ管特異的遺伝子の発現を亢進し, 血管内皮性の遺伝子発現を抑制するように転写の再プログラミングを起こし, リンパ管細胞分化へと細胞表現型を変化させる^{15,16)}。

KSHV はカポジ肉腫以外にもエイズ関連の PEL からも非常に高頻度で検出される。エイズ関連非ホジキンリンパ腫の一つである PEL と, EBV 関連のバーキットリンパ腫や他のエイズ関連非ホジキンリンパ腫とは, 発現する遺伝子パターンが異なる。一方, カポジ肉腫や PEL と比べ, MCD での KSHV 陽性率は低いが, エイズ関連型 MCD 発症者では, KSHV が高頻度で検出される。この場合, IL6 や vIL6 (K2) が MCD 発症に関わっている。また, KSHV 陽性 MCD では, LANA と vIL6, K10, RTA の共発現が観察される。

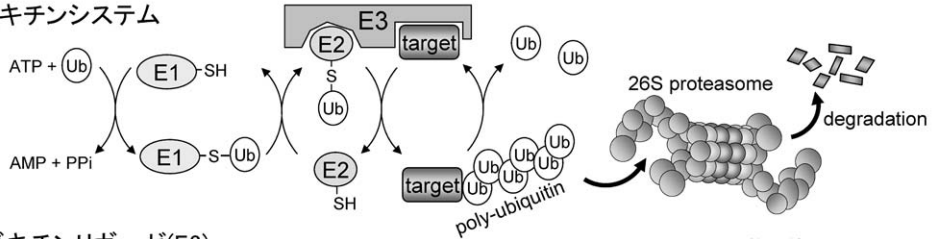
II. KSHV によるユビキチンシステムの模倣と制御

1. ユビキチンシステム

ユビキチン (ubiquitin: Ub) システムとは, Ub 活性化酵素 (E1), Ub 結合酵素 (E2) および Ub リガーゼ (E3) からなる Ub 付加酵素群によって, 多数の Ub 分子からなるポリ Ub 鎖が標的蛋白質に付加される翻訳後修飾システムである (図 2-I)¹⁷⁾。E1 は単一分子であるが, E2 として, 構造的に共通した UBC ドメインを持つ十数個が存在する。E3 は, 分子多様性に富み多数の分子種からなり, HECT 型と RING 型 (単量体・複合体型) に分類される (図 2-II)。これら E1-E2-E3 の一連の反応により, 標的蛋白質の Lys 残基に Ub が共有結合し (ユビキチン化: Ub 化), さらに共有結合した Ub の Lys 残基に Ub が共有結合し, この Ub 化の反応が繰り返されてポリ Ub 鎖が形成される。Ub 分子内には 7 個の Lys 残基が存在し, どの Lys 残基を介してポリ Ub 鎖が形成されるのかにより, Ub 化は複数の機能を持つ¹⁷⁻¹⁹⁾。例えば, Ub 分子内の 48 番目の Lys 残基を介して形成されるポリ Ub 鎖 (K48 ポリ Ub 鎖) は, 26S プロテアソームによって認識され, 分解シグナルとして働く。細胞内シグナル伝達に関わる (または, それを制御する) 短寿命蛋白質や転写因子の多くが K48 ポリ Ub 鎖修飾を受けプロテアソームにより分解されることから, Ub システムはシグナル伝達の制御にも深く関与している。一方, 63 番目の Lys 残基を介して形成されるポリ Ub 鎖 (K63 ポリ Ub 鎖) は, エンドサイトーシスや DNA 修復, さらに, NF- κ B シグナル等の細胞内シグナル伝達の制御に関与する。

最近の報告から, この KSHV の遺伝子産物が, 宿主細胞の Ub システムを模倣または破壊させ, Ub システムにより制御を受けるシグナル伝達や免疫応答を脱制御するウイルス戦略が浮かび上がってきた。すなわち, KSHV は, 細

I. ユビキチンシステム



II. ユビキチンリガーゼ(E3)

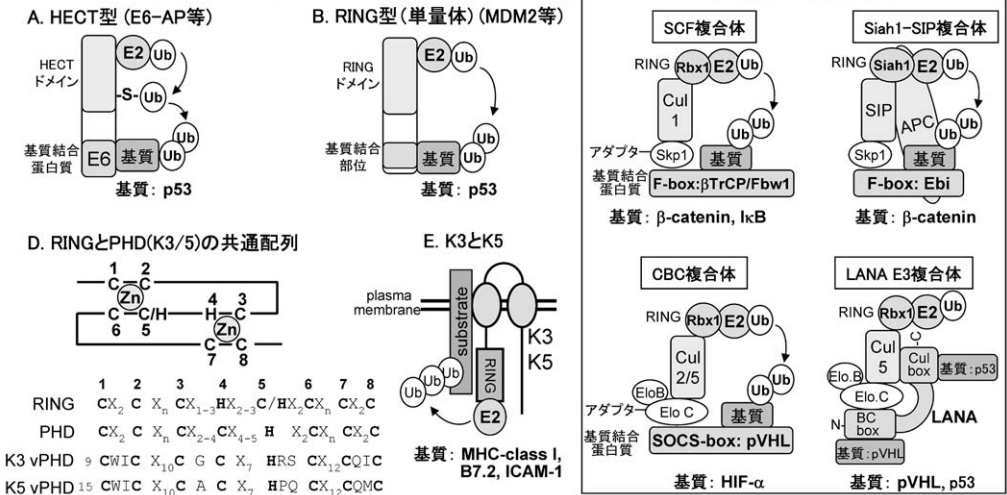


図2. ユビキチンシステムと Ub リガーゼ E3

I. ユビキチン (Ub) は、ATP と Ub 活性化酵素 (E1) により、C 末端の Gly 残基が活性化され、E1 の Cys 残基にチオエステル結合する。次に、Ub は E1 から Ub 結合酵素 (E2) へ転移され、最後に、Ub リガーゼ (E3) の働きにより標的蛋白質へ付加される。この時、Ub 分子の C 末端 Gly のカルボキシル基と標的蛋白質の Lys 残基の ε-アミノ基がイソペプチド結合を介して共有結合する。さらに、E1-E2-E3 によるカスケード反応が繰り返され、Ub 自身の Lys 残基に複数個の Ub が鎖状に結合することによって、ポリ Ub 鎖が形成される。

II. E2 から基質蛋白質への Ub の転移の様式により、Ub リガーゼ E3 は HECT 型 (A) と RING 型 (B および C) に大別される。HECT 型 E3 (A) は、Ub 分子を E2 から E3 分子自身の HECT ドメイン内の Cys 残基に転移させ、引き続き、基質蛋白質に連結させる。ヒトパピローマウイルスが発現する E6 と結合し、p53 に対する E3 として機能する E6AP は、HECT 型に分類される。一方、RING 型 E3 は、E2 との結合部位として RING フィンガードドメイン (Zn²⁺ に結合するモジュール構造) をもち、Ub 分子を E2 から直接基質蛋白質に連結させる。RING 型 E3 には、MDM2 (p53 に対する E3) 等の単量型 (B) と、SCF 複合体 (β-カテニン、IκB に対する E3) や CBC 複合体 (HIF-α に対する E3) 等の複合体型 (C) に分類される。RING フィンガードドメインと類似の PHD フィンガードドメイン (D) を持つ PHD 型 E3 も RING 型 E3 に分類される。RING 型 E3 複合体は、足場蛋白質 (cullin (Cul) ファミリー蛋白質)、E2 との結合のための RING フィンガー蛋白質 (Rbx1 や Siah)、アダプター蛋白質 (Skp1 や Elongin B・C (Elo B・C))、基質認識蛋白質 (F-box や SOCS-box) で構成されるが、これら各サブユニットを置換することで驚くべき多様性を有している。KSHV の LANA も、CBC 複合体を構成するサブユニットを利用し、ウイルス性 CBC 複合体 (LANA E3 複合体) を構築する。さらに、KSHV の K3 と K5 は PHD フィンガードドメイン (D) を有し、MHC-クラス I に対する 2 回膜貫通型 E3 として機能する (E)。

胞の増殖、サイトカイン産生、アポトーシスを制御するシグナル伝達や抗原提示に関わる蛋白

質分解、さらに、それらを制御機構の中心となる Ub システムを脱制御することで、細胞内を

ウイルスにとっての好環境に再構築する。この様な、ウイルス性蛋白質が細胞性の制御因子として機能し、細胞機能の乗っ取り行為を海賊行為に例え、Molecular Piracy (分子海賊) と名付けた²⁰⁻²²⁾。次項では、Ub システムとシグナル伝達が KSHV にどの様な機構で乗っ取られるのか、その分子海賊機構について解説する。

2. LANA は HIF および p53 に対する Ub リガーゼ E3 として機能する

HIF (hypoxia inducible factor) は、細胞レベルの低酸素に応答する bHLH 型の転写因子である。HIF は、 α と β の 2 つのサブユニットからなるヘテロダイマーを形成し転写因子として機能する。細胞内において、 β サブユニットが恒常的に発現しているのに対し、 α サブユニット (HIF- α) は低酸素状況下で発現が亢進するので、HIF- α が HIF の転写活性を規定している。また、HIF- α は、プロリン残基が水酸化を受けると、RING 型 Ub リガーゼ E3 (基質認識蛋白質として pVHL を有する CBC 複合体) によりポリ Ub 化される (図 2-II-C)^{23,24)}。

一方、HIF-1 α は RTA の mRNA 発現誘導を介して PEL 細胞を溶解感染へ移行させる²⁵⁾。また、カボジ肉腫の腫瘍細胞内で HIF- α が増加していることが知られていたが、その理由は肉腫内部で細胞密度が増大し低酸素環境が形成されるためと考えられていた。最近、KSHV の LANA が、HIF- α に対する Ub リガーゼ E3 の構成因子である pVHL、およびがん抑制因子である p53 を認識し、Ub リガーゼ E3 の基質認識サブユニットとして、pVHL および p53 のポリ Ub 化による分解を促進していることが報告された²⁶⁾。興味深いことに、LANA が形成する Ub リガーゼ E3 (LANA E3 複合体) は、HIF- α に対する Ub リガーゼ E3 である CBC 複合体と同じタイプに属し、Cul5-Rbx1-ElonginB・C-LANA で構成される (図 2-II-C)。LANA は、その N 末端側領域に ElonginB・C との結合部位 (BC box) を有し、C 末端側領域には Cul5 との結合部位 (Cul box) を有し、SOCS-like

motif を形成する。LANA は、N 末端側領域で pVHL を、C 末端側領域で p53 を補足し、CBC 複合体の基質認識サブユニットとして機能する。事実、KSHV 感染により pVHL や p53 の蛋白質量が減少し、HIF- α は増加する。この KSHV による HIF- α 増加の理由は、HIF- α に対する Ub リガーゼ E3 の構成因子 pVHL (HIF- α 認識蛋白質) が LANA を含む Ub リガーゼ E3 によりポリ Ub 化を受け分解されるためだと考えられる。しかし、p53 に関しては、KSHV 感染 (特に PEL 細胞) は p53 に対する生理的な Ub リガーゼ E3 である MDM2 の量を変化させるという報告もある^{27,28)}。つまり、KSHV 感染による p53 の不安定化の原因を、p53 に対する LANA を含む Ub リガーゼ E3 単独の作用で説明できるか不明である。今後の更なる解明が期待される。

3. K3 と K5 による MHC クラス I のポリユビキチン化と免疫回避

ウイルスに感染した細胞では、ウイルス蛋白質は K48 型ポリ Ub 化修飾とプロテアソームにより迅速な分解を受け、分解で生成したウイルス由来のペプチド断片は MHC クラス I 分子により抗原提示される。この外来因子の抗原提示により、細胞障害性 T 細胞はウイルス感染細胞を傷害・除去することができる。26S プロテアソームはキモトリプシン様、トリプシン様およびカスパーゼ様活性を有し、それぞれの活性部位で基質蛋白質の疎水性、塩基性および酸性アミノ酸残基の C 末端側が切断される。MHC クラス I に提示されるペプチドは 7-9 アミノ酸からなり、その C 末端が疎水性または塩基性アミノ酸でなければならない。すなわち、MHC クラス I の抗原提示機構の始動に、ユビキチン依存的なプロテアソームによる蛋白質分解は非常に重要である。一方で、モノ Ub 化や 63 番目の Lys 残基を介して形成されるポリ Ub 鎖は細胞表面からのエンドサイトーシスにおける蛋白質輸送に関与する。興味深いことに、KSHV の遺伝子産物が MHC クラス I に対する

新規 Ub リガーゼ E3 として発見された。また、このポリ Ub 化は蛋白質分解ではなくエンドサイトーシスに關与する。すなわち、KSHV の遺伝子産物が細胞膜上の MHC クラス I 分子の発現量を抑制し、感染細胞における抗原提示を阻害するというウイルス側の免疫回避の新機構が明らかにされた。

KSHV の溶解感染初期に発現する膜蛋白質 K3/MIR1 (modulator of immune recognition 1) と K5/MIR2 は、MHC クラス I に対する Ub リガーゼ E3 として機能する^{29,30)}。K3 と K5 は、RING 型 Ub リガーゼ E3 に分類される PHD (plant homeodomain) 型 E3 である。RING 型 E3 は、E2 との結合部位として、RING フィンガードメイン (共通配列: CX₂CX_nCX₁₋₃HX₂₋₃C/HX₂CX_nCX₂C) をもつ (図 2-II-D)。PHD 型 E3 は、RING フィンガーと類似の PHD フィンガー (共通配列: CX₂CX_nCX₂₋₄CX_X₄₋₅HX₂CX_nCX₂C) を持つ (C は Cys, H は His, X は任意のアミノ酸)。K3 と K5 は、細胞膜上の MHC クラス I に、63 番目の Lys 残基を介して形成されるポリ Ub 鎖を付加する (図 2-II-E)^{31,32)}。ポリ Ub 化された MHC クラス I はエンドサイトーシスにより細胞内へと移行し、リソソームで分解される。すなわち、K3 および K5 は感染細胞膜上での MHC クラス I による抗原提示を阻害する。なお、K3 と K5 はそれぞれ、MHC クラス I の膜貫通領域に依存した異なるクラス I 特異性を持つ。K3 は HLA-A, B, C および E を認識し、K5 は HLA-A, B および E を認識して、エンドサイトーシスを誘導する。さらに、K5 は NK 細胞活性化のためのリガンド B7-2 と ICAM-1 の発現を抑制し、NK 細胞の殺細胞活性も抑制する³³⁾。これら K3 および K5 による宿主ユビキチンシステムの模倣は、KSHV のウイルス増殖初期過程における宿主免疫回避のための戦略として非常に重要な機構であると考えられる。

III. KSHV による宿主シグナル伝達制御

1. KSHV による NF- κ B シグナルの活性化

NF- κ B シグナルは血管新生を含む細胞の増殖や生存、さらに初期免疫応答において重要な機能を持つ (図 3)³⁴⁾。また、PEL を含む多くの悪性腫瘍では NF- κ B 経路の恒常的活性化が認められている。さらに NF- κ B シグナルは、その活性化により惹起される抗アポトーシスやサイトカイン産生により、多くのウイルスの標的となりウイルスによる脱制御を受けることが分かっている^{35,36)}。

シグナル OFF の状況下では、NF- κ B シグナルは I κ B α により抑制されているが、I κ B α が分解されるとシグナルは活性化する。この I κ B α の分解反応において、I κ B α は IKK 複合体によりリン酸化されると、 β TrCP/Fbw1 を有する SCF 複合体 (SCF ^{β TrCP}) はリン酸化 I κ B α に結合し、K48 で形成されたポリ Ub 鎖 (K48 ポリ Ub 鎖) を付加する (図 2-II-C)。そして、ポリ Ub 化された I κ B α は 26S プロテアソームにより迅速に分解される。KSHV を含む多くのウイルスは、この I κ B α の分解機構を脱制御することで、NF- κ B シグナルを活性化 (または抑制) し、感染細胞のアポトーシス移行や免疫応答を阻害する。

KSHV の latent 遺伝子である vFLIP (ORF71/K13) と K15, lytic 遺伝子の K1, K7 と vGPCR の、5 つの遺伝子産物が NF- κ B シグナルを活性化することから、NF- κ B シグナルの活性化は KSHV の病原性発現と感染維持に必須であると考えられている (図 3)²²⁾。カスパーゼ 8 阻害蛋白質 (FLIP) のウイルスホモログである vFLIP は、Fas や TNF 等の Death 受容体を介するアポトーシス経路において、カスパーゼ 8 を阻害しアポトーシスを抑制する。また、vFLIP は、I κ B kinase 複合体 (IKK) の構成因子 NEMO/IKK γ と相互作用することで NF- κ B 経路を活性化し、アポトーシスの阻害や IL6 の発現誘導を行なう^{37,38)}。一方、TRAF2 は vFLIP と NEMO の結合を促進して、IKK 複合

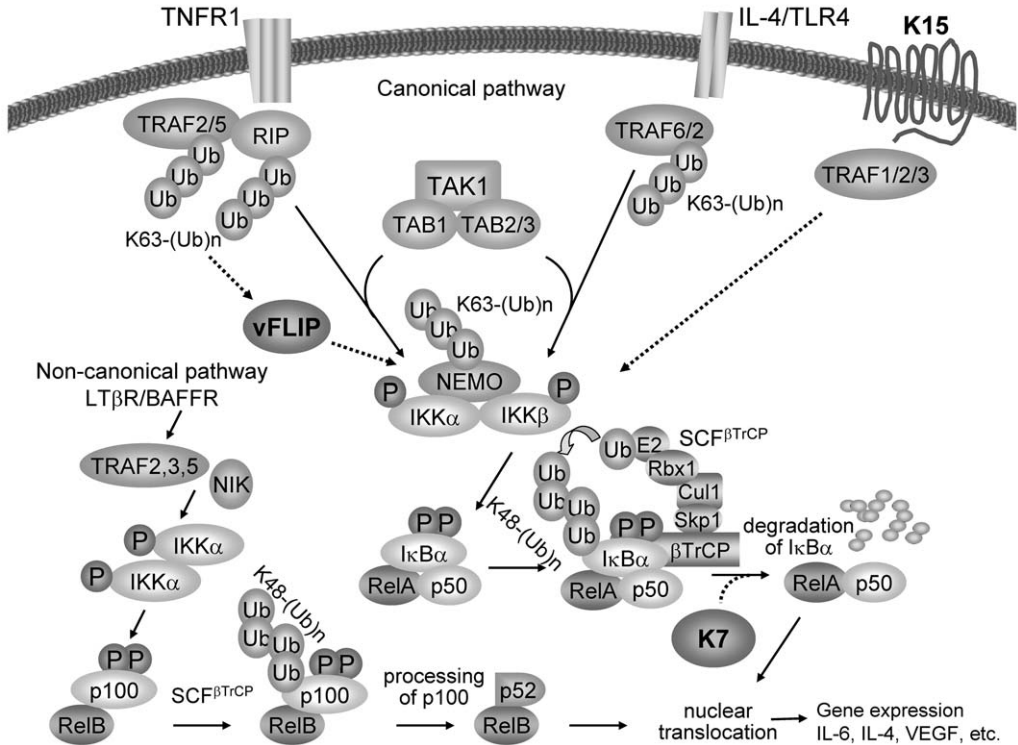


図3. KSHVによるNF- κ Bシグナルの活性化

非刺激状態の細胞において、NF- κ BシグナルはI κ B α により抑制されている。古典的経路では、I κ B α は転写因子NF- κ B (p50-RelA)と細胞質において結合し、NF- κ Bの核移行シグナルをマスクすることでNF- κ Bの核移行と転写活性を阻害する。このI κ B α によるシグナルの抑制は、リン酸化酵素IKK α とIKK β 、さらにスキャホールド蛋白質NEMO (IKK γ)からなるIKK (IKK)複合体によるI κ B α へのリン酸化で解除される。I κ B α へのリン酸化はSCF ^{β TrCP}により触媒されるI κ B α へのK48ポリUb化のトリガーとなり、ポリUb化修飾を受けたI κ B α は分解され、NF- κ Bは核へと移行し、DNA上の κ B配列に結合して標的遺伝子の転写活性化を行う。TNF- α 、IL-1 β 、リポ多糖等の刺激は、TRAF6自身やTRAF6により誘導されるNEMOのK63ポリUb化が関与する。なお、この活性化にはTRAF6自身やTRAF6により誘導されるNEMOのK63ポリUb化が関与する。また、TAK1もIKKをリン酸化しIKKの活性化を行なう。TAK1は、TAB1とTAB2・3と複合体を形成することが必要とされている。TAB2・3はTAK1のリン酸化活性と、K63ポリUb化NEMO (またはTRAF6)とTAB2・3のZinc-fingerドメインを介して結合できる。TNF- α 刺激はRIPのK63ポリUb化を誘導し、このポリUb化RIPはNEMOをIKK複合体へ、さらにTAB2・3-TAK1複合体をTNFレセプターへとリクルートする。一方、非古典的経路では、刺激により活性化したNIKはIKK α ホモダイマー複合体を活性化し、p100-RelB複合体を限定分解へと導く。これにより産生されたp52-RelBは核移行し、転写活性を示す。

KSHVのK7はユビキリンとの相互作用を介してI κ Bの分解を促進して、NF κ Bシグナルを活性化する。vFLIPは、TRAF2依存的にIKK複合体中のNEMOと相互作用することでIKKを活性化する。その結果、vFLIPはNF κ Bシグナルの活性化を惹起してアポトーシス阻害やIL6の発現誘導を行なう。K15は細胞質領域でTRAF1・2・3と結合し、NF- κ Bを活性化して抗アポトーシスに関与する。vGPCRは恒常的活性化受容体として機能し、NF- κ B、PI3K-AktおよびMAPKシグナルの活性化を行う。EBVがコードするLMP1ホモログであるKSHVの膜蛋白質K1は、NF- κ BやPI3K-Aktシグナルを活性化し、アポトーシス阻害に関与する。

体を活性化し canonical (古典的経路) と non-canonical (非古典経路) の両経路の活性化に関与する^{39,40)}。12回膜貫通型蛋白質 K15 は、その細胞質領域に TRAF, SH2/3 結合部位を有し、NF- κ B, MAPK, ERK2 を活性化して抗アポトーシス作用や溶解感染移行阻害に関与する⁴¹⁾。KSHV の K7 は、ユビキチン様蛋白質 (UBL 蛋白質) の一つユビキリン (Ubiquilin) との結合依存的に I κ B の分解を促進して、NF κ B シグナルを活性化する⁴²⁾。KSHV の lytic サイクルにおいて、ヒト IL8 受容体のホモログである ORF74/vGPCR は、リガンド非依存的な恒常的活性化受容体として機能し、NF- κ B, PI3K-Akt および MAPK シグナルの活性化と、転写因子 NF-AT, AP-1 の制御を行い、血管内皮細胞の増殖と分化に関与する⁴³⁾。EBV の LMP1 ホモログである膜蛋白質 K1 は、TRAF-NF- κ B や PI3K-Akt シグナルを活性化し、アポトーシス阻害や、Akt/PKB 活性化依存的な Forkhead 型転写因子 (FOXO) のリン酸化と分解促進に関与する。

2. KSHV による Wnt シグナルの脱制御

Wnt シグナルは胚発生や体細胞分裂の盛んな組織において活性化され、体軸の決定、器官形成および細胞増殖に必須のシグナル伝達である⁴⁴⁾。Wnt 経路のシグナル伝達因子である β -カテニンでは、乳がん、大腸がん、肝がん等の様々な腫瘍組織において、過剰蓄積が観察されている。さらに、その過剰蓄積の原因は β -カテニンの安定化を誘発する遺伝的変異であり、Wnt シグナルの異常と発がんは密接に関連している⁴⁵⁾。

Wnt リガンド非存在下や KSHV 非感染細胞において、 β -カテニンの不安定化による負の制御が働き、Wnt シグナルは抑制されている (図 4)。すなわち、 β -カテニンは GSK-3 β -APC-Axin 複合体によりリン酸化され、このリン酸化が β TrCP を有する SCF ^{β TrCP} 複合体 (図 3-II-C) による K48 ポリ Ub 化のシグナルとなる。そして、ポリ Ub 化された β -カテニンは 26S プロテ

アソームにより分解される。しかし、KSHV が発現する LANA により正常な Wnt シグナル制御は破綻することを我々は明らかにしてきた^{20,22)}。つまり、LANA は GSK-3 β を核内で結合・拘束することで、細胞質での GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化による分解を阻害する。その結果、カポジ肉腫や PEL 細胞において、 β -カテニンは安定化され、Wnt シグナルの活性化がおきる (図 4)^{46,47)}。

正常細胞において、Axin は、GSK-3 β と β -カテニンを互いに繋ぎ止めるアダプターとしての機能を果たす。LANA も、Axin の GSK-3 β 結合配列⁴⁹⁾ (GSK-3 interaction domain: GID ドメイン) と類似の配列を、その C 末端に有しており、この領域が LANA と GSK-3 β との結合に必須である⁴⁶⁾。また、LANA と結合した GSK-3 β (LANA 結合型 GSK-3 β) は、非結合型 GSK-3 β に比べて、そのリン酸化活性が低下していた⁴⁸⁾。GSK-3 β は、分子内の Ser⁹ を Akt/PKB によりリン酸化されると不活性化することが知られている。Hayward らにより、LANA は GSK-3 β と ERK の両分子と共結合し、LANA 分子上で ERK は GSK-3 β の Ser⁹ をリン酸化して不活性化することが証明された⁵¹⁾。これらの結果より、細胞質で GSK-3 β のリン酸化活性を正に制御する Axin に対して、核内で LANA が、Axin の機能的ホモログとして、GSK-3 β を負に制御していることが明らかになった。

c-Myc, CyclinD, c-Jun, C/EBP α , β 等の発がんに関わる多くの転写因子が GSK-3 β によりリン酸化を受け、このリン酸化が分解シグナルであるポリ Ub 化のトリガーとなることから⁵⁰⁾、LANA がこれら核内蛋白質の安定化を誘導することが推察された。事実、我々の報告の後、他のグループにより LANA の GSK-3 β 阻害による c-Myc と C/EBP α / β の安定化が報告された^{51,52)}。

β -カテニンに対する Ub リガーゼ E3 は 2 種類存在する (図 2-II-C)。1 つは、上述した GSK-3 β によるリン酸化依存的な SCF ^{β TrCP} 複合体 (基質認識サブユニットは F-box を有する β TrCP/Fbw1) である。もう 1 つは、APC に結

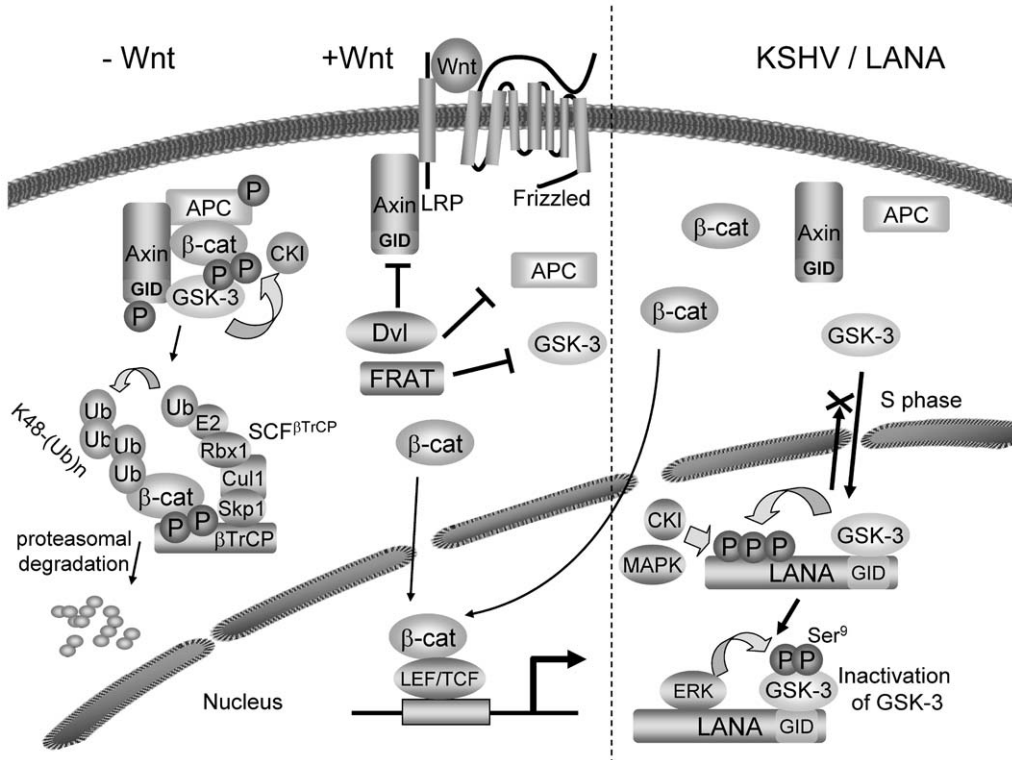


図4. KSHVによる β -カテニン分解の制御

リガンド非存在下・存在下のWntシグナルの制御とLANAによるWntシグナル活性化を図示した。Wntリガンド非存在下やKSHV非感染下において、 β -カテニンはSer・ThrキナーゼGSK-3 β によるリン酸化とリン酸化依存的分解を受けるので、Wntシグナルは抑制される。すなわち、GSK-3 β -APC (adenomatous polyposis coli)-Axin複合体が β -カテニンのリン酸化を行なう。GSK-3 β は β -カテニンと直接結合(リン酸化も)できない。そこで、GSK-3 β と β -カテニン両者を繋ぎとめるためのプラットフォームとしてAPC-Axin複合体が機能する。リン酸化された β -カテニンは、UbリガーゼE3のSCF $^{\beta\text{TrCP}}$ によりポリUb化され、26Sプロテアソームにより分解される。一方、Wntリガンド存在下においては、リガンドがその受容体Frizzledや共役受容体Lrp5/6に結合することで、Wntシグナルの起動スイッチがONになる。Wntが受容体に結合すると、LRP5/6はAxinをリクルートしてAxinの分解を促進する。また、Dishevelled (Dvl)はAPC-Axin-GSK-3 β 複合体の解離を阻害し、FRAT・GBPはGSK-3 β のリン酸化活性を直接阻害する。その結果、 β -カテニンは安定化し、核に移行してTCF・LEFと標的遺伝子の転写を活性化する。KSHV感染下では、LANAはGSK-3 β を核内で結合・拘束することで、GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化依存的分解を阻害し、Wntシグナルの活性化を生じる。GSK-3 β と β -カテニンを互いに繋ぎ止めるアダプター分子AxinのGSK-3 β 結合配列(GIDドメイン)をLANAは、そのC末端に有しGSK-3 β と結合する。GSK-3 β は細胞周期のS期特異的に核に移行するが、LANA自身も細胞周期をS期に誘導する活性を持ち、LANAは積極的に核局在性のGSK-3 β を増加させる。

合しGSK-3 β 非依存的に β -カテニンをポリUb化するShial-SIP複合体(基質認識サブユニットはF-boxを有するEbi)である。最近、EBVが発現する膜蛋白質LMP1がShialの発現を抑

制し、LMP1を発現しているEBV感染B細胞やEBV陽性上咽頭がん上皮細胞で β -カテニンが安定化されていることが報告されている⁵³⁾。

3. Notch シグナルを利用した KSHV と EBV の遺伝子発現制御

Notch シグナルは末梢 B 細胞の分化、造血幹細胞やリンパ球前駆細胞の T 細胞・B 細胞への分化、血管内皮細胞の動・静脈への分化において重要な役割をはたす^{54,55)}。興味深いことに、KSHV の RTA や EBV の EBNA2、さらにアデノウイルスの E1A は Notch シグナルを標的とし、Notch シグナルの転写因子である CSL と結合して標的遺伝子やウイルス遺伝子の転写制御を行なう。

KSHV と同科の γ -ヘルペスウイルスに属す EBV は EBNA2 を初期遺伝子の一つとして発現する。EBNA2 は感染細胞の不活化に必要な核蛋白質である。Hayward らは、EBV ゲノムの C promoter (Cp) に CSL が結合すること (CSL は CBF1 (Cp binding protein) と呼ばれる)、さらに、EBNA2 と NotchIC は転写抑制複合体と競合的に CSL の転写抑制ドメインと結合して CSL の転写活性を上昇させることを明らかにしてきた (図 5-A, B)⁵⁶⁻⁵⁸⁾。EBNA2 は、NotchIC 同様に転写活性化複合体を CSL にリクルートすると考えられている。また、EBNA3A, 3B, 3C も CSL に EBNA2 と競合的に結合し、EBNA2・CSL の転写活性化能を負に制御する。一方、EBNA-LP は EBNA2・CSL の転写活性を増長させる。CSL は CD21 や CD23, c-fgr 等の細胞性遺伝子のプロモーターや、EBV ゲノムの Cp や LMP1 プロモーターにも結合し、EBV 感染による B 細胞不活化に関わると推測されているが、その詳細は不明である。B 細胞不活化に関わる、EBNA2-CSL と NotchIC-CSL の両者の共通の標的遺伝子の特定が今後の課題である。

KSHV による Notch シグナルへの作用は、潜伏感染から溶解感染移行への制御に関与している (図 5-C)。PEL を TPA 等のホルボールエステルで刺激すると、潜伏感染している KSHV は溶解感染サイクルへと移行する。この溶解感染移行のためのスイッチ分子が RTA/ORF50 で

ある。RTA はウイルス複製開始に必須な転写因子や DNA 複製酵素発現のため、ウイルスと細胞ゲノムのプロモーターに直接結合し、転写活性化因子として機能する。一方で、RTA は細胞性転写因子とも相互作用することで間接的な転写活性化も行なう。例えば、RTA と K8 は協調的に細胞性転写因子 C/EBP α と相互作用し、p21 を介した細胞周期 arrest を引き起こす⁵⁹⁻⁶¹⁾。さらに、RTA は CSL とも結合し、CSL を介した転写制御を行なう。CSL 遺伝子のノックアウトマウスの線維芽細胞では、RTA の標的遺伝子の転写応答が低下し、KSHV の潜伏感染は効率的に維持され、ウイルス複製・出芽などの溶解感染は劇的に抑制される⁶²⁾。RTA は CSL 内の 2 個所の部位と結合するが、その 1 つは NotchIC や EBNA2 が標的とする CSL 内の転写抑制ドメインである。この事実は、NotchIC や EBNA2 同様に、RTA は CSL の転写抑制ドメインに結合した転写抑制複合体と競合的に CSL の活性制御を行なう可能性を示している。

RTA を含む複数の KSHV 溶解感染期蛋白質が CSL 結合配列を有しており、RTA を介した Notch シグナル活性化は溶解感染サイクル構築のための一因ではあると考えられる。しかし、KSHV 潜伏感染細胞に EBNA2 や NotchIC を発現させただけでは溶解感染は誘導できない。すなわち、RTA や NotchIC による Notch シグナル活性化は、溶解感染開始の必要条件だが、十分条件ではない。RTA の転写因子としての機能や、RTA と CSL 等の細胞性転写因子の結合による間接的転写活性化、さらに他の KSHV 遺伝子産物や細胞性因子が複合的に溶解感染開始を決定すると考えられる。

おわりに

KSHV のゲノム情報は既に解明され、各遺伝子の発現制御機構や遺伝子産物の機能は明らかになりつつある。KSHV 自身が発現するウイルス蛋白質や細胞性の転写制御因子を利用して、

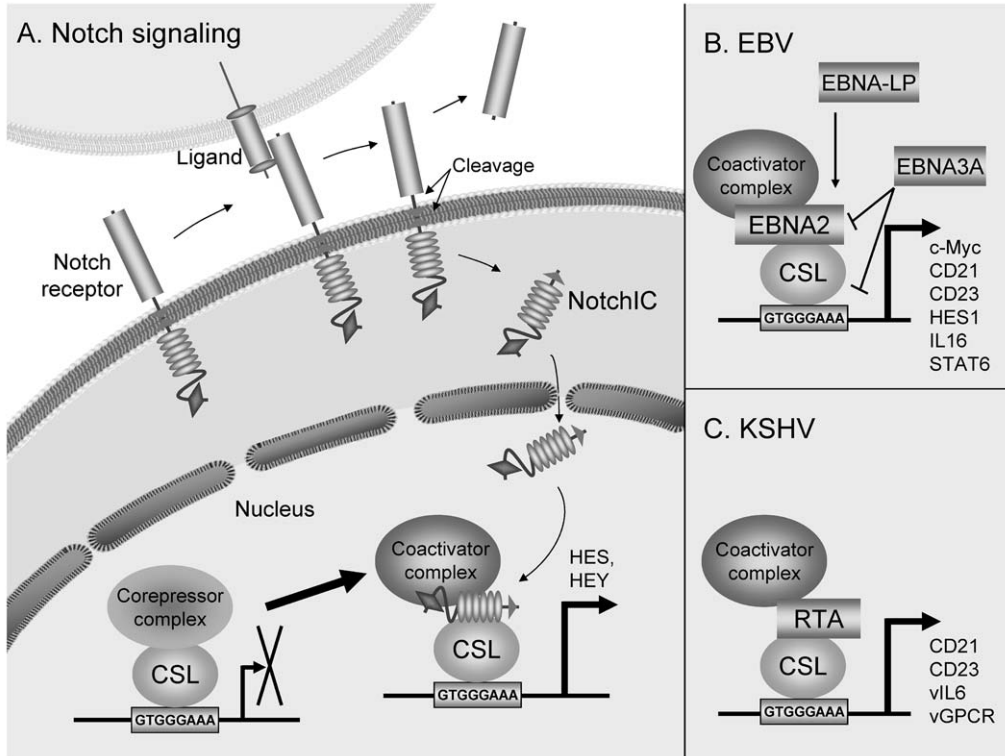


図5. Notch シグナルを介した KSHV と EBV の遺伝子発現制御

1 回膜貫通型受容体である Notch 受容体 (Notch1, 2, 3, 4) は, そのリガンド (Jagged-1, 2, Delta-like-1, 3, 4) との結合により, γ -セクレターゼを含む多段階の切断反応が誘起し, Notch 受容体の細胞内領域が細胞膜から切り出される。Notch 受容体の細胞内領域は活性型 Notch (Notch intracellular domain; NotchIC) として核に移行し, DNA 結合蛋白質 CSL [CBF1/Su (H): Suppressor of Hairless/Lag-1 (RBP-J κ)] と結合して転写を活性化する。CSL はもともと, RBP-J κ (recombination signal sequence-binding protein-J) として免疫グロブリンの J κ 遺伝子のヘプタマー配列に結合する蛋白質として同定された。CSL は, Zinc-finger や bHLH などの既知の DNA 結合領域を持たない転写因子であり, 通常の状態 (シグナル OFF 時) では CSL は HDAC \cdot SMRT \cdot SKIP \cdot CIR 等の転写抑制複合体と結合し, その転写活性は阻害されている。しかし, Notch シグナルが ON の時は, 核に移行してきた NotchIC が CSL に結合し, CSL から転写抑制複合体は (おそらく構造変化により) 解離する。転写抑制複合体の代わりにリクルートされる転写活性化複合体 \cdot CSL \cdot NotchIC の三者複合体は CSL 標的遺伝子の転写を活性化する (A)。KSHV の RTA や EBV の EBNA2 は, CSL と結合して Notch シグナル標的遺伝子やウイルス遺伝子の転写制御を行なう (B, C)。

KSHV は厳密に制御された細胞 \cdot ウイルスゲノムの遺伝子発現プログラムを構築する。さらに, 自己にとってより有利な環境構築のために, KSHV は, 宿主が有するユビキチンシステムを操作 \cdot 模倣することで, 細胞応答や細胞内シグナル伝達の制御, さらに宿主免疫回避を行なう。これらウイルス性因子と細胞性因子の相互作用

による KSHV の感染維持や増殖機構の全貌解明が待たれる。

引用文献

- 1) Ablashi DV, Chatlynne LG, Whitman JE, Cesarman E: Spectrum of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, or human herpesvirus 8, diseases.

- Clin Microbiol Rev, **15**: 439–464, 2002.
- 2) Dourmishev LA, Dourmishev AL, Palmeri D, Schwartz RA, Lukac DM: Molecular genetics of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus-8) epidemiology and pathogenesis. *67*: 175–212, 2003.
 - 3) Jarviluoma A, Ojala PM: Cell signaling pathways engaged by KSHV. *Biochim Biophys Acta*, **1766**: 140–158, 2006.
 - 4) 藤室雅弘: KSHV と発がん. ウイルス, **56**: 209–218, 2006.
 - 5) Kaposi M: Idiopathisches multiples Pigmentsarkom der Haut. *Arch Dermatol Syph*, **4**: 265–273, 1872.
 - 6) Giraldo G, Beth E, Haguenu F: Herpes-type virus particles in tissue culture of Kaposi's sarcoma from different geographic regions. *J Nat Cancer Inst*, **49**: 1509–1526, 1972.
 - 7) Chang Y, Cesarman E, *et al.*: Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science*, **266**: 1865–1869, 1994.
 - 8) Russo JJ, Bohenzky RA, *et al.*: Nucleotide sequence of the Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (HHV8). *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 14862–14867, 1996.
 - 9) Akula SM, Pramod NP, Wang FZ, Chandran B: Integrin alpha3beta1 (CD 49c/29) is a cellular receptor for Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) entry into the target cells. *Cell*, **108**: 407–419, 2002.
 - 10) Veettil MV, Sadagopan S, *et al.*: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus forms a multimolecular complex of integrins (alphaVbeta5, alphaVbeta3, and alpha3beta1) and CD98-xCT during infection of human dermal microvascular endothelial cells, and CD98-xCT is essential for the postentry stage of infection. *J Virol*, **82**: 12126–12144, 2008.
 - 11) Nishiwaki M, Fujimuro M. *et al.*: Epidemiology of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infections in peripheral blood leukocytes revealed by a multiplex PCR assay. *J Med Virol*, **78**: 1635–1642, 2006.
 - 12) Barbera AJ, Chodaparambil JV, *et al.*: The nucleosomal surface as a docking station for Kaposi's sarcoma herpesvirus LANA. *Science*, **311**: 856–861, 2006.
 - 13) Ballestas ME, Chatiss PA, Kaye KM: Efficient persistence of extrachromosomal KSHV DNA mediated by latency-associated nuclear antigen. *Science*, **284**: 641–644, 1999.
 - 14) Krithivas A, Fujimuro M, Weidner M, Young DB, Hayward SD: Protein interactions targeting the latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus to cell chromosomes. *J Virol*, **76**: 11596–11604, 2002.
 - 15) Wang HW, Trotter MW, *et al.*: Kaposi sarcoma herpesvirus-induced cellular reprogramming contributes to the lymphatic endothelial gene expression in Kaposi sarcoma. *Nat Genet*, **36**: 687–693, 2004.
 - 16) Hong YK, Foreman K, *et al.*: Lymphatic reprogramming of blood vascular endothelium by Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Nat Genet*, **36**: 683–685, 2004.
 - 17) Pickart CM: Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem*, **70**: 503–533, 2001.
 - 18) Ciechanover A: Proteolysis: from the lysosome to ubiquitin and the proteasome. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **6**: 79–87, 2005.
 - 19) Glickman MH, Ciechanover A: The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: Destruction for the sake of construction. *Physiol Rev*, **82**: 373–428, 2001.
 - 20) Fujimuro M, Hayward SD: Manipulation of glyco-gen-synthase kinase-3 activity in KSHV-associated cancers. *J Mol Med*, **82**: 223–231, 2004.
 - 21) Hayward SD, Liu J, Fujimuro M: Notch and Wnt Signaling: Mimicry and manipulation by gamma herpesviruses. *Science STKE*, **335**: re4, 2006
 - 22) Fujimuro M, Hayward SD, Yokosawa H: Molecular Piracy: Manipulation of the Ubiquitin System by Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus. *Rev Med Virol*, **17**: 405–422, 2007.
 - 23) Kamura T, Sato S, *et al.*: Activation of HIF1 α ubiquitination by a reconstituted von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**: 10430–10435, 2000.
 - 24) Ohh M, Park CW, *et al.*: Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the β -domain of the von Hippel-Lindau protein. *Nat Cell Biol*, **2**: 423–427, 2000.
 - 25) Haque M, Wang V, *et al.*: Genetic organization and hypoxic activation of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF34-37 gene cluster. *J Virol*, **80**: 7037–7051, 2006.
 - 26) Cai QL, Knight JS, Verma SC, Zald P, Robertson ES: EC5S ubiquitin complex is recruited by KSHV latent antigen LANA for degradation of the VHL and p53 tumor suppressors. *PLoS Pathog*, **2**: e116, 2006.
 - 27) Sarek G, Kurki S, *et al.*: Reactivation of the p53 pathway as a treatment modality for KSHV-induced lymphomas. *J Clin Invest*, **117**: 1019–1028, 2007.
 - 28) Petre CE, Sin SH, Dittmer DP: Functional p53 signaling in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus lymphomas: implications for therapy. *J*

- Viol, **81**: 1912–1922, 2007.
- 29) Ishido S, Wang C, Lee BS, Cohen GB, Jung JU: Downregulation of major histocompatibility complex class I molecules by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K3 and K5 proteins. *J Virol*, **74**: 5300–5309, 2000.
 - 30) Coscoy L, Ganem D: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus encodes two proteins that block cell surface display of MHC class I chains by enhancing their endocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**: 8051–8056, 2000.
 - 31) Coscoy L, Sanchez DJ, Ganem D: A novel class of herpesvirus-encoded membrane-bound E3 ubiquitin ligases regulates endocytosis of proteins involved in immune recognition. *J Cell Biol*, **155**: 1265–1273, 2001.
 - 32) Duncan LM, Piper S, *et al.*: Lysine-63-linked ubiquitination is required for endolysosomal degradation of class I molecules. *EMBO J*, **25**: 1635–1645, 2006.
 - 33) Ishido S, Choi JK, *et al.*: Inhibition of natural killer cell-mediated cytotoxicity by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K5 protein. *Immunity*, **13**: 365–374, 2000.
 - 34) Chen ZJ: Ubiquitin signalling in the NF- κ B pathway. *Nat Cell Biol*, **7**: 758–765, 2005.
 - 35) Hiscott J, Nguyen TL, *et al.*: Manipulation of the nuclear factor- κ B pathway and the innate immune response by viruses. *Oncogene*, **25**: 6844–6867, 2006.
 - 36) Brinkmann MM, Schulz TF: Regulation of intracellular signalling by the terminal membrane proteins of members of the Gammaherpesvirinae. *J Gen Virol*, **87**: 1047–1074, 2006.
 - 37) Matta H, Chaudhary PM: Activation of alternative NF- κ B pathway by human herpesvirus 8-encoded Fas-associated death domain-like IL-1 β -converting enzyme inhibitory protein (vFLIP). *Proc Natl Acad Sci USA*, **101**: 9399–9404, 2004.
 - 38) Chugh P, Matta H, *et al.*: Constitutive NF- κ B activation, normal Fas-induced apoptosis, and increased incidence of lymphoma in human herpes virus 8 K13 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**: 12885–12890, 2005.
 - 39) Field N, Low W, *et al.*: KSHV vFLIP binds to IKK- γ to activate IKK. *J Cell Sci*, **116**: 3721–3728, 2003.
 - 40) Guaspari I, Wu H, Cesarman E: The KSHV oncoprotein vFLIP contains a TRAF-interacting motif and requires TRAF2 and TRAF3 for signaling. *EMBO Rep*, **7**: 114–119, 2006.
 - 41) Brinkmann MM, Glenn M, *et al.*: Activation of mitogen-activated protein kinase and NF- κ B pathways by a Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K15 membrane protein. *J Virol*, **77**: 9346–9358, 2003.
 - 42) Feng P, Scott CW, *et al.*: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K7 protein targets a ubiquitin-like/ubiquitin-associated domain-containing protein to promote protein degradation. *Mol Cell Biol*, **24**: 3938–3948, 2004.
 - 43) Schwarz M, Murphy PM: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus G protein-coupled receptor constitutively activates NF- κ B and induces proinflammatory cytokine and chemokine production via a C-terminal signaling determinant. *J Immunol*, **167**: 505–513, 2001.
 - 44) Kimelman D, Xu W: β -catenin destruction complex: insights and questions from a structural perspective. *Oncogene*, **25**: 7482–7491, 2006.
 - 45) Clevers H: Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell*, **127**: 469–480, 2006.
 - 46) Fujimuro M, Wu FY, *et al.*: A novel viral mechanism for dysregulation of β -catenin in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency. *Nat Med*, **9**: 300–306, 2003.
 - 47) Fujimuro M, Hayward SD: The latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus manipulates the activity of glycogen synthase kinase-3 β . *J Virol*, **77**: 8019–8030, 2003.
 - 48) Fujimuro M, Liu J, Zhu J, Yokosawa H, Hayward SD: Regulation of the interaction between glycogen synthase kinase 3 and the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency-associated nuclear antigen. *J Virol*, **79**: 10429–10441, 2005.
 - 49) Webster MT, Rozyczka M, *et al.*: Sequence variants of the axin gene in breast, colon, and other cancers: an analysis of mutations that interfere with GSK3 binding. *Genes Chromosomes Cancer*, **28**: 443–453, 2000.
 - 50) Nakayama KI, Nakayama K: Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer. *Nat Rev Cancer*, **6**: 369–381, 2006.
 - 51) Liu J, Martin H, *et al.*: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus LANA protein downregulates nuclear glycogen synthase kinase 3 activity and consequently blocks differentiation. *J Virol*, **81**: 4722–4731, 2007.
 - 52) Bubman D, Guaspari I, Cesarman E: Deregulation of c-Myc in primary effusion lymphoma by Kaposi's sarcoma herpesvirus latency-associated nuclear antigen. *Oncogene*, **26**: 4979–4986, 2007.
 - 53) Jang KL, Shackelford J, Seo SY, Pagano JS: Upregulation of beta-catenin by a viral oncogene correlates with inhibition of the seven in absentia homolog 1 in B lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**: 18431–18436, 2005.
 - 54) Phng LK, Gerhardt H: Angiogenesis: a team effort coordinated by notch. *Dev Cell*, **16**: 196–208,

- 2009.
- 55) Leong KG, Karsan A: Recent insights into the role of Notch signaling in tumorigenesis. *Blood*, **107**: 2223–2233, 2006.
 - 56) Zhou S, Fujimuro M, *et al.*: SKIP, a CBF1-associated protein, interacts with the ankyrin repeat domain of NotchIC to facilitate NotchIC function. *Mol Cell Biol*, **20**: 2400–2410, 2000.
 - 57) Zhou S, Fujimuro M, Hsieh JJ, Chen L, Hayward SD: A role for SKIP in EBNA2 activation of CBF1-repressed promoters. *J Virol*, **74**: 1939–1947, 2000.
 - 58) Hsieh JJ, Hayward SD: Masking of the CBF1/RBPJ kappa transcriptional repression domain by Epstein-Barr virus EBNA2. *Science*, **268**: 560–563, 1995.
 - 59) Wu FY, Wang SE, *et al.*: Cell cycle arrest by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus replication-associated protein is mediated at both the transcriptional and posttranslational levels by binding to CCAAT/enhancer-binding protein alpha and p21 (CIP-1). *J Virol*, **77**: 8893–8914, 2003.
 - 60) Wang SE, Wu FY, Fujimuro M, Zong J, Hayward SD, Hayward GS: Role of CCAAT/enhancer-binding protein alpha (C/EBPalpha) in activation of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) lytic-cycle replication-associated protein (RAP) promoter in cooperation with the KSHV replication and transcription activator (RTA) and RAP. *J Virol*, **77**: 600–623, 2003.
 - 61) Wu FY, Tang QQ, *et al.*: Lytic replication-associated protein (RAP) encoded by Kaposi sarcoma-associated herpesvirus causes p21CIP-1-mediated G1 cell cycle arrest through CCAAT/enhancer-binding protein-alpha. *Proc Natl Acad Sci USA*, **99**: 10683–10688, 2002.
 - 62) Liang Y, Ganem D: Lytic but not latent infection by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus requires host CSL protein, the mediator of Notch signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**: 8490–8495, 2003.

**Molecular Piracy: Dysregulations of Cellular Ubiquitin System and Signaling Pathways
by Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus**

Masahiro FUJIMURO¹⁾, Ryosuke MINAMI²⁾, Chie SUZUKI²⁾, Shintaro KANAI²⁾, Koji YAMADA²⁾ and Takahiro TAIRA¹⁾

¹⁾ Department of Molecular Cell Biology, Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi;

²⁾ Department of Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University

Abstract: Ubiquitination, one of several post-translational protein modifications, plays a key role in the regulation of cellular events, including protein degradation, signal transduction, endocytosis, protein trafficking, apoptosis, and immune responses. It has recently been observed that viruses, especially oncogenic herpesviruses, utilize molecular piracy by encoding their own proteins to interfere with regulation of cell signaling. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV, also known as human herpesvirus 8), is well known to be responsible for Kaposi's sarcoma, the most common AIDS-related cancer. KSHV is also associated with primary effusion lymphoma and multicentric Castleman's disease. KSHV manipulates the ubiquitin system to facilitate cell proliferation, anti-apoptosis, and evasion from immunity. In this review, we describe the strategies used by KSHV at distinct stages of the viral life-cycle to control the ubiquitin system and promote oncogenesis and viral persistence.

Key words: Kaposi's Sarcoma-associated, Herpesvirus Human Herpesvirus 8, Ubiquitin, Proteasome, Signaling Pathway