

## 2. Epstein-Barr ウイルス溶解感染における 細胞内環境変化に関する研究

佐藤 好隆<sup>1),2)</sup>

1) 名古屋大学大学院 医学系研究科 ウイルス学

2) 科学技術振興機構 さきがけ

Epstein-Barr ウイルス (Epstein-Barr virus; EBV) は、 $\gamma$ -ヘルペスウイルス亜科に属する DNA ウイルスで、最初に発見されたヒト癌ウイルスでもある。EBV は潜伏感染と溶解感染 (ウイルス産生感染) の2つの感染様式を持ち、基本的に EBV 感染細胞は潜伏感染を呈するが、ときに溶解感染へと移行し、子孫ウイルス産生およびウイルス伝播が起きる。溶解感染では約 80 個のウイルス遺伝子が秩序立って発現し、短時間の内にウイルスゲノム複製と、続く粒子形成が協調的になされる。本稿では、潜伏感染から溶解感染へと変化するとき、宿主細胞内でどのような変化が起きているのかについて、筆者の研究経緯を交えながら概説する。

### はじめに

ウイルスは宿主細胞内で短時間に爆発的に増殖し、感染細胞あたり数百から数万の子孫ウイルスが産生される。この非常に効率的な増殖には、時間と場所の制御が必須である。例えば、必要な“時”に必要な“もの (遺伝子産物)”が必要な“量”だけ提供可能となる秩序だったウイルス遺伝子発現や、反応に必要な因子が密に存在し、反応速度を最大化する“場”である。さらに、ウイルスは宿主細胞にとって異物であるため、宿主細胞は侵入した異物 (ウイルス) を排除しようとする。これを巧みに回避する機構もウイルスは有している。このように、ウイルスは多重かつ多階層的に宿主細胞内の環境をコントロールしながら、宿主細胞内で増殖する。この感染細胞内で生じるダイナミックな変化を理解することは、抗ウイルス戦略を考える上で非常に重要である。

### EBV について

Epstein-Barr ウイルス (EBV) は、 $\gamma$ -ヘルペスウイルス亜科に属する DNA ウイルスで、成人の約 9 割が抗体陽性とされ、最も広く浸淫しているウイルスのひとつである。EBV の初感染は多くは無症候性であるが、思春期以降では伝染性単核症の原因となる。一方で、EBV はヒト腫瘍ウイルスでもあり、バーキットリンパ腫や上咽頭癌、胃癌など EBV 関連腫瘍の新規発症者は全世界で年間 200,000 人にもなる<sup>1,2)</sup>。

EBV は T リンパ球や上皮細胞にも感染するが、自然宿主は B リンパ球である。EBV が感染した B リンパ球はリンパ芽球へと形質転換し、分裂増殖を繰り返すようになる (不死化する)<sup>3)</sup>。このとき、感染細胞ではごく限られたウイルス遺伝子産物 (9 種のウイルス蛋白質と 3 種のウイルス RNA; 表 1) しか発現しておらず、ウイルス粒子産生もなく、EBV は潜伏感染状態となる<sup>2,4)</sup>。そのため、EBV はヘルペスウイルスの潜伏感染モデルとして研究されてきた。

### 潜伏感染と溶解感染

EBV は潜伏感染と溶解感染の2つの感染様式を持ち (表 1)、基本的に EBV 感染細胞は潜伏感染を呈する<sup>5)</sup>。そして、ときに溶解感染へと移行し、子孫ウイルス産生およびウイルス伝播が起きる<sup>6,7)</sup>。潜伏感染細胞は分裂増殖するため、

### 連絡先

〒466-8550

愛知県名古屋市昭和区鶴舞 65

名古屋大学大学院 医学系研究科 ウイルス学

TEL: 052-744-2451

FAX: 052-744-2452

E-mail: yssato@med.nagoya-u.ac.jp

表1: EBV の潜伏感染と溶解感染

		潜伏感染	溶解感染 (ウイルス産生感染)
感染細胞での頻度		90% 以上	5-10% 程度
ウイルス遺伝子発現		EBNA1, 2,3s, LP LMP1, 2A, 2B EBER1, 2, and BARTs	ほぼ全てのウイルス遺伝子 (約 80 種類)
ウイルスゲノム複製	複製装置 様式	宿主複製装置 S 期に同調して 1 回	ウイルス複製装置 ローリングサイクル型で 100 - 1000 倍に増幅
子孫ウイルス産生		なし	あり

感染の維持には娘細胞にウイルスゲノムが分配される必要がある。潜伏感染では、ウイルスゲノムは宿主の染色体複製装置により S 期に 1 回複製される<sup>8)</sup>。複製されたウイルスゲノムは、EBNA1 を介して宿主染色体と結合し細胞分裂時に宿主染色体と共に分配される。EBNA1 を介した分配機構は、娘細胞に等しくウイルスゲノムを分配することを可能にし、ウイルスゲノムは感染細胞内で維持され続ける<sup>9, 10)</sup>。潜伏感染細胞ではウイルスゲノムは環状 DNA として維持される。一方、溶解感染では短時間で大量のウイルスゲノムを複製する必要があるため、ウイルスゲノム複製は 7 種のウイルス複製蛋白質から構成されるウイルス複製装置により実行される。ローリングサイクル型の複製が起き、中間産物として長い head to tail concatemer ができる。これは後に、ユニットサイズに切断され、カプシド内へパッケージされる<sup>11)</sup>。

#### 溶解感染への移行に伴う細胞内環境変化

潜伏感染から溶解感染への移行は、BZLF1 タンパク質の発現により規定される。BZLF1 タンパク質は、ウイルスゲノムの複製開始部位に結合してウイルスのコードする複製タンパク質群の会合を誘導するとともに、転写因子としても機能して溶解感染関連ウイルス遺伝子群 (詳細は後述する「ウイルス遺伝子転写カスケード」の項を参照) の発現を誘導する。さらに、BZLF1 タンパク質は p53 などの宿主タンパク質の溶解感染の進行に応じた緻密な制御にも関わる (表 2)。

溶解感染ではウイルス粒子産生に細胞内資源を集中させるため、EBV は細胞周期もコントロールする。溶解感染では、ウイルスゲノム複製に適した late-G1 から S 期の環境に細胞内環境が整えられる。BZLF1 タンパク質は低リン酸化状態 (活性化状態ではない) の p53 と DNA との結合を増強することで、p53 の下流にある細胞周期調節因子 p21<sup>Cip1/Waf1</sup> の発現を誘導し、溶解感染の初期には細胞周期を G1 期付近に止める<sup>12-15)</sup>。ウイルスゲノム複製が爆発的に行われると、ウイルスゲノムは異常 DNA として検知され、宿主 DNA 損傷応答が誘導される<sup>16)</sup>。なお、EBV

に限らず、ウイルスゲノム複製で宿主 DNA 損傷応答が惹起されることは様々なウイルスで報告されている<sup>16-20)</sup>。宿主 DNA 損傷応答はゲノムの完全性 (genome integrity) を維持するための機構で、傷害 DNA は取り除き、修復される。修復が困難な場合には細胞死が誘導される<sup>21, 22)</sup>。この宿主 DNA 損傷応答でも p53 は中心的な役割を果たすが、ウイルスにとっては p53 の活性化による細胞死の誘導は不都合である<sup>23)</sup>。そのため、これを巧みに回避する機構を EBV は有している。溶解感染で宿主 DNA 損傷応答が惹起されると、ATM がリン酸化し、下流の Chk2 へとシグナルを伝える。これらのキナーゼは p53 をリン酸化し、活性化状態にするが、溶解感染の中期以降では p53 の下流にシグナルが伝達されない<sup>15, 16, 24, 25)</sup>。これは、p53 が E3 ユビキチンリガーゼの一種である Elongin B/C-Cul2/5-SOCS-box protein (ECS) 複合体と BZLF1 タンパク質を介して結合し、p53 がユビキチン化され、分解されるためである<sup>24, 26)</sup>。興味深いことに、BZLF1 タンパク質を介した ECS リガーゼ複合体との結合は、Chk2 による p53 の C 末端のリン酸化により増強する。従って、EBV は活性化状態の p53 (ウイルスにとってアポトーシスへと導く可能性がある危険な p53) を優先的に分解することが可能となる<sup>26)</sup>。

一方で、宿主 DNA 損傷応答はウイルスにとって不都合な宿主反応とは限らない。それは、ウイルスゲノムの完全性の維持および効率的なウイルスゲノム複製に、EBV は宿主 DNA 損傷応答をも利用しているからである。ATM からのシグナルは MRN 複合体へと伝えられて、相同組換え修復酵素をウイルスゲノム上にリクルートする。これらの複合体により、ウイルスの DNA ポリメラーゼによって複製された不完全なゲノムが補完され、効率的なウイルスゲノム複製が達成される<sup>27, 28)</sup>。このように、宿主 DNA 損傷応答はウイルスにとって重要である。これをさらに確実なものにするため、EBV は宿主 DNA 損傷応答を増幅する機構も備えている。その中心を担うのが、EBV のコードする唯一のプロテインキナーゼ BGLF4 タンパク質である。BGLF4 キナーゼは、ヒストン H2AX をリン酸化し、

表 2: EBV 溶解感染における BZLF1 タンパク質および BGLF4 タンパク質の役割

溶解感染での BZLF1 タンパク質の主な役割とその効果	
ウイルス初期遺伝子の発現誘導	ウイルスゲノム複製
複製起点 oriLyt への複製タンパク質群のリクルート	ウイルスゲノム複製
低リン酸化 p53 の DNA 結合能増強	S 期様環境の形成
高リン酸化 p53 の分解	S 期様環境の維持・ 抗アポトーシス
溶解感染での BGLF4 タンパク質の主な役割とその効果	
リン酸化を介した p27 の分解	S 期様環境の形成・維持
リン酸化を介した MCM4, condensin, TopoII の機能調節	宿主ゲノム複製の抑制
リン酸化を介した vPIC の転写活性化能の促進	ウイルス後期遺伝子の誘導
リン酸化を介した SAMHD1 の活性抑制	dNTP pool の増加

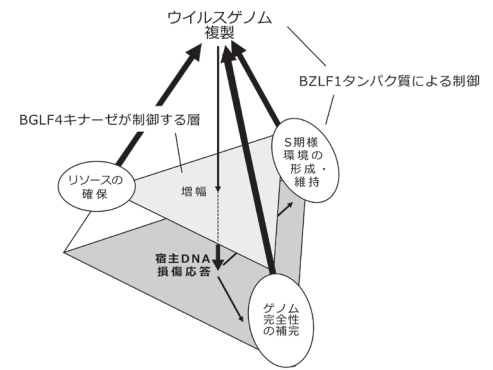


図 1 EBV による多階層的な宿主環境支配

宿主 DNA 損傷応答を増幅させる<sup>29)</sup>。

BZLF1 タンパク質と同様に, BGLF4 キナーゼも溶解感染のための細胞内環境調整に多面的に機能する (表 2)。BGLF4 キナーゼはコンデンシンやトポイソメラーゼ II をリン酸化し, 宿主染色体を凝集させる<sup>30)</sup>。さらに, 宿主の染色体複製開始に関わる MCM 複合体の MCM4 のリン酸化を介して, MCM 複合体のヘリカーゼ活性を抑制する<sup>31)</sup>。そのため, 溶解感染では宿主のゲノム複製が抑制され, ウイルスゲノム複製のみが実施される。BGLF4 キナーゼは細胞周期調節因子 p27<sup>Kip1</sup> の Thr-187 をリン酸化する<sup>32)</sup>。リン酸化された p27<sup>Kip1</sup> は SCF<sup>Skp2</sup> によって, ポリユビキチン鎖を付加され, 分解へと誘導される。これも, 溶解感染での S 期 CDK の活性化に貢献する。さらに, BGLF4 キナーゼは, 細胞内の dNTP の量を制御する因子である Sterile alpha motif and HD domain 1 (SAMHD1) をリン酸化することが最近, 報告された。リン酸化により SAMHD1 の dNTPase 活性は低下し, 新たに複製されるゲノムの原料となる dNTP プールが増加することで, 効率的なウイルスゲノム複製が可能となる<sup>33)</sup>。加えて, BGLF4 キナーゼは核膜の裏打ちタンパク質であるラミン A/C のリン酸化を介して, 核膜構造の再構成を促し, EBV カプシドの nuclear egress にも関与する<sup>34)</sup>。また, BGLF4 キナーゼは詳細なメカニズムは未だ不明であるが, 後期遺伝子転写を正に制御することが報告されている<sup>35)</sup>。

多機能ウイルスタンパク質による宿主タンパク質の制御が幾重にも重なってウイルス複製に適した環境が形成されていく (図 1)。このように整えられた細胞内環境は, S 期 CDKs (Cyclin A- および Cyclin E-CDKs) は高い活性を示すが, 宿主のゲノム複製は起きないという S 期に類似した状態で S 期様環境と呼んでいる<sup>11, 36)</sup>。

#### ウイルス遺伝子転写カスケード

EBV の溶解感染では, ほぼすべてのウイルス遺伝子が秩序立ったカスケードによって発現する<sup>11)</sup>。まず, 転写

因子をコードしている前初期遺伝子 *BZLF1* と *BRLF1* が発現し, 溶解感染が開始する。BZLF1 タンパク質と BRLF1 タンパク質は, ウイルスゲノム複製に必要なウイルス遺伝子群 (初期遺伝子) の発現を誘導する<sup>37)</sup>。初期遺伝子産物がウイルスゲノムを複製すると, 新規に合成されたウイルスゲノムを鋳型として, ウイルス粒子形成に必要な遺伝子がコードされている後期遺伝子が発現する<sup>38-40)</sup>。

S 期様環境はウイルス遺伝子発現にも適した環境である。S 期 CDK 活性が高い状態であるため, Rb は高リン酸化状態となり, E2F 転写因子が遊離する<sup>25)</sup>。E2F-1 は宿主の複製タンパク質の発現を誘導するとともに, EBV の DNA ポリメラーゼを含む初期遺伝子の転写も誘導する<sup>25, 41)</sup>。E2F-1 は宿主 DNA 損傷応答によっても活性化するため<sup>42, 43)</sup>, EBV 溶解感染では少なくとも 2 つの制御系により活性化されている。

さらに, S 期 CDK 活性は後期遺伝子発現の時間的な制御にも関わることを最近報告した<sup>44)</sup>。EBV を含む  $\beta$ - および  $\gamma$ -ヘルペスウイルスではウイルス後期遺伝子の転写が, ウイルスのコードする転写調節因子複合体 (viral pre-initiation complex; vPIC) によって制御される<sup>35, 39, 45)</sup>。この vPIC 複合体の構成因子である BDLF4 は, S 期 CDKs の基質であり, ウイルス複製の進行とともに BDLF4 は高度にリン酸化される。低リン酸化状態の BDLF4 は不安定で, すぐにユビキチン化され, 分解されてしまう。しかし, BDLF4 はリン酸化により安定化し, vPIC が形成可能となる<sup>44)</sup>。そのため, 溶解感染の後期に BDLF4 が安定化し, 後期遺伝子の発現を誘導するという時間的な制御が可能となる。このように, EBV は溶解感染の進行に伴う宿主環境の変化を巧みに利用し, ウイルス遺伝子発現の時間的な制御を行っている (図 2)。

ウイルス遺伝子発現は時間的な制御だけでなく, 空間的な制御も受けている。溶解感染細胞の核内には Replication compartment と呼ばれる核内構造体が出現し, ウイルス複製工場として機能する。Replication compartment には



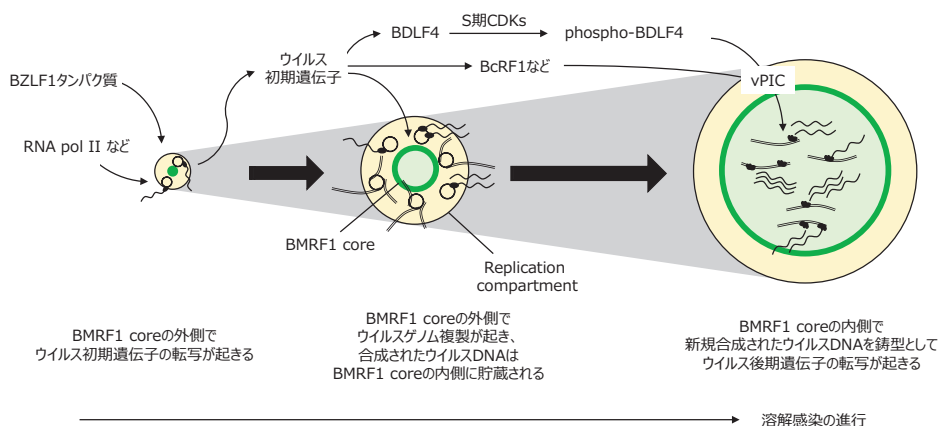


図2 Replication compartment を中心とした複製と転写の制御

複製と転写に関わる宿主タンパク質とウイルスタンパク質が高密度に局在する<sup>28, 40)</sup>。溶解感染の初期には核内に点在するように存在する Replication compartment は、ウイルス産生に伴って、最終的には核内の大部分を占めるまで成長する。免疫染色と3次元再構成解析により、Replication compartment はウイルスタンパク質 BMRF1 で形成されるコア構造が存在し<sup>46)</sup>、コア構造の内と外でウイルス前期遺伝子と後期遺伝子の転写がそれぞれ起こることを明らかにした<sup>47)</sup>(図2)。Replication compartment は膜構造を持たないオルガネラ様の構造体であるが、その形成には液-液層分離が関与していることも明らかになりつつある(筆者ら未発表データ)。したがって、EBV はウイルス遺伝子の転写を時空間的に制御することで、効率的な子孫ウイルス産生を達成する。

### おわりに

本稿では、EBV 溶解感染細胞内の環境がウイルスによって、多重かつ多階層的に、そして、緻密に制御されていることを紹介した。溶解感染は子孫ウイルス産生に必須であるが、溶解感染関連遺伝子(溶解感染時に発現するウイルス遺伝子)の一部は、ウイルス産生時の他にも発現し、機能を果たしている。例えば、EBV がBリンパ球へ初感染する場合にも一部の溶解感染関連遺伝子が発現し、感染細胞のアポトーシスを抑制していること<sup>48-51)</sup>や、潜伏感染の成立までの間に不完全な溶解感染を経由すること(筆者ら未発表データ)が明らかとなっている。また、組換えEBVを使用したマウス実験で、個体でのウイルス発がんは潜伏感染だけでなく、溶解感染も関与することが示された<sup>52)</sup>。臨床検体を使用したEBV 関連腫瘍の次世代シーケンス解析でも溶解感染(特に不完全な溶解感染: ウイルス複製は起きるが粒子形成が完結しない)の重要性が示唆された<sup>53)</sup>。したがって、溶解感染による細胞内の環境変化はウイルス産生に留まらず、EBV 関連疾患と密接に関連しているかもしれない。さらに、組織中でのウイルス感染を

考えると、感染細胞の隣には必ず非感染細胞(未感染細胞)が存在し、それらの相互作用もあるはずである。実際に、EBV のコードする癌原性タンパク質 LMP1 は発現細胞と非発現細胞との間で細胞競合(適応度の高い細胞集団が適応度の低い細胞集団を排除する現象)が観察された<sup>54)</sup>。したがって、今後は細胞内での環境変化に加えて、細胞外の変化についても解析し、疾患発症や感染の成立を含めた感染細胞の運命決定機構について研究していきたい。さらに、個体レベルでウイルス感染を考えると、EBV が単独で感染していることは稀で、他のウイルスと宿主個体の中で共存することになる。そこに何らかの相互作用が生じることは想像に難くない。そのため、異種ウイルス間の相互作用にも迫る研究を展開していきたいと考えている。

### 謝辞

本研究は、愛知県がんセンター研究所の鶴見達也先生、名古屋大学大学院医学系研究科の西山幸廣先生、同木村宏先生のご指導のもと行った研究です。この場を借りて、心より感謝申し上げます。研究を進めるにあたり、多くの共同研究者や同僚、学生、研究補助員の方々にご協力いただきました。特に、ユーシービージャパン株式会社 工藤あゆみ先生、藤田医科大学 村田貴之先生、東京大学医科学研究所 川口寧先生には折に触れてご助言いただきました。また、研究を始めた名古屋大学工学部では飯島信司先生(現:愛知工業大学)に、学士編入生として在学した神戸大学医学部では井垣達史先生(現:京都大学)にご指導いただきました。改めて、御礼申し上げます。最後に、本賞にご推薦くださいました木村宏先生、吉川哲史先生、神田輝先生、本研究をご評価いただいた日本ウイルス学会の先生方に深謝いたします。

本稿で紹介した研究の一部は、JSPS 特別研究員奨励費(07J00030)、科研費(15H06278, 16H06231, 19H04829)、JST 戦略的創造研究推進事業(さきがけ)(JPMJPR19H5)、

AMED (JP19fm0208016, JP19ck0106517, JP19jk0210023), GSK ジャパン, 武田科学振興財団, 愛知健康増進財団, 第24回日本医学会総会記念医学振興基金, 北村血液疾患研究基金, 堀科学芸術振興財団, 名古屋大学 NU MIRAI2019, MSD 生命科学財団の支援を受けて行ったものです。ご支援に厚く御礼申し上げます。

### 利益相反開示

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業などはありません。

### 参考文献

- 1) Cohen JI, Fauci AS, Varmus H, Nabel GJ. 2011. Epstein-Barr virus: an important vaccine target for cancer prevention. *Sci Transl Med* 3:107fs7.
- 2) Young LS, Rickinson AB. 2004. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer* 4:757-68.
- 3) Kieff E, Rickinson A. 2007. *Fields virology*, fifth edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- 4) Babcock GJ, Decker LL, Volk M, Thorley-Lawson DA. 1998. EBV persistence in memory B cells in vivo. *J Virol* 72:395-404.
- 5) Murata T, Tsurumi T. 2014. Switching of EBV cycles between latent and lytic states. *Rev Med Virol* 24:142-53.
- 6) Murata T. 2014. Regulation of Epstein-Barr virus reactivation from latency. *Microbiol Immunol* 58:307-17.
- 7) McKenzie J, El-Guindy A. 2015. Epstein-Barr Virus Lytic Cycle Reactivation. *Curr Top Microbiol Immunol* 391:237-61.
- 8) Adams A. 1987. Replication of latent Epstein-Barr virus genomes in Raji cells. *J Virol* 61:1743-6.
- 9) Nanbo A, Sugden A, Sugden B. 2007. The coupling of synthesis and partitioning of EBV's plasmid replicon is revealed in live cells. *EMBO J* 26:4252-62.
- 10) Kanda T, Horikoshi N, Murata T, Kawashima D, Sugimoto A, Narita Y, Kurumizaka H, Tsurumi T. 2013. Interaction between basic residues of Epstein-Barr virus EBNA1 protein and cellular chromatin mediates viral plasmid maintenance. *J Biol Chem* 288:24189-99.
- 11) Tsurumi T, Fujita M, Kudoh A. 2005. Latent and lytic Epstein-Barr virus replication strategies. *Rev Med Virol* 15:3-15.
- 12) Cayrol C, Flemington E. 1996. G0/G1 growth arrest mediated by a region encompassing the basic leucine zipper (bZIP) domain of the Epstein-Barr virus transactivator Zta. *J Biol Chem* 271:31799-802.
- 13) Cayrol C, Flemington EK. 1996. The Epstein-Barr virus bZIP transcription factor Zta causes G0/G1 cell cycle arrest through induction of cyclin-dependent kinase inhibitors. *EMBO J* 15:2748-59.
- 14) Mauser A, Saito S, Appella E, Anderson CW, Seaman WT, Kenney S. 2002. The Epstein-Barr virus immediate-early protein BZLF1 regulates p53 function through multiple mechanisms. *J Virol* 76:12503-12.
- 15) Sato Y, Shirata N, Murata T, Nakasu S, Kudoh A, Iwahori S, Nakayama S, Chiba S, Isomura H, Kanda T, Tsurumi T. 2010. Transient increases in p53-responsive gene expression at early stages of Epstein-Barr virus productive replication. *Cell Cycle* 9:807-14.
- 16) Kudoh A, Fujita M, Zhang L, Shirata N, Daikoku T, Sugaya Y, Isomura H, Nishiyama Y, Tsurumi T. 2005. Epstein-Barr virus lytic replication elicits ATM checkpoint signal transduction while providing an S-phase-like cellular environment. *J Biol Chem* 280:8156-63.
- 17) Stracker TH, Carson CT, Weitzman MD. 2002. Adenovirus oncoproteins inactivate the Mre11-Rad50-NBS1 DNA repair complex. *Mol Cell* 10:348-52.
- 18) Dahl J, You J, Benjamin TL. 2005. Induction and utilization of an ATM signaling pathway by polyomavirus. *J Virol* 79:13007-17.
- 19) Shirata N, Kudoh A, Daikoku T, Tatsumi Y, Fujita M, Kiyono T, Sugaya Y, Isomura H, Ishizaki K, Tsurumi T. 2005. Activation of ataxia telangiectasia-mutated DNA damage checkpoint signal transduction elicited by herpes simplex virus infection. *J Biol Chem* 280:30336-41.
- 20) Gaspar M, Shenk T. 2006. Human cytomegalovirus inhibits a DNA damage response by mislocalizing checkpoint proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2821-6.
- 21) Vousden KH, Lu X. 2002. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer* 2:594-604.
- 22) Oren M. 2003. Decision making by p53: life, death and cancer. *Cell Death Differ* 10:431-42.
- 23) Sato Y, Tsurumi T. 2013. Genome guardian p53 and viral infections. *Rev Med Virol* 23:213-20.
- 24) Sato Y, Shirata N, Kudoh A, Iwahori S, Nakayama S, Murata T, Isomura H, Nishiyama Y, Tsurumi T. 2009. Expression of Epstein-Barr virus BZLF1 immediate-early protein induces p53 degradation independent of MDM2, leading to repression of p53-mediated transcription. *Mol Cell* 38:204-11.
- 25) Kudoh A, Fujita M, Kiyono T, Kuzushima K, Sugaya Y, Izuta S, Nishiyama Y, Tsurumi T. 2003. Reactivation of lytic replication from B cells latently infected with Epstein-Barr virus occurs with high S-phase cyclin-dependent kinase activity while inhibiting cellular DNA replication. *J Virol* 77:851-61.
- 26) Sato Y, Kamura T, Shirata N, Murata T, Kudoh A, Iwahori S, Nakayama S, Isomura H, Nishiyama Y, Tsurumi T. 2009. Degradation of Phosphorylated p53 by Viral Protein-ECS E3 Ligase Complex. *PLoS Pathog* 5:e1000530.
- 27) Kudoh A, Iwahori S, Sato Y, Nakayama S, Isomura H, Murata T, Tsurumi T. 2009. Homologous recombinational repair factors are recruited and loaded onto the viral DNA genome in Epstein-Barr virus replication compartments. *J Virol* 83:6641-51.
- 28) Daikoku T, Kudoh A, Fujita M, Sugaya Y, Isomura H, Shirata N, Tsurumi T. 2005. Architecture of replication compartments formed during Epstein-Barr virus lytic replication. *J Virol* 79:3409-18.
- 29) Tarakanova VL, Leung-Pineda V, Hwang S, Yang CW,

- Matatall K, Basson M, Sun R, Piwnica-Worms H, Sleckman BP, Virgin HW. 2007. Gamma-herpesvirus kinase actively initiates a DNA damage response by inducing phosphorylation of H2AX to foster viral replication. *Cell Host Microbe* 1:275-86.
- 30) Lee CP, Chen JY, Wang JT, Kimura K, Takemoto A, Lu CC, Chen MR. 2007. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase induces premature chromosome condensation through activation of condensin and topoisomerase II. *J Virol* 81:5166-80.
- 31) Kudoh A, Daikoku T, Ishimi Y, Kawaguchi Y, Shirata N, Iwahori S, Isomura H, Tsurumi T. 2006. Phosphorylation of MCM4 at sites inactivating DNA helicase activity of the MCM4-MCM6-MCM7 complex during Epstein-Barr virus productive replication. *J Virol* 80:10064-72.
- 32) Iwahori S, Murata T, Kudoh A, Sato Y, Nakayama S, Isomura H, Kanda T, Tsurumi T. 2009. Phosphorylation of p27Kip1 by Epstein-Barr Virus Protein Kinase Induces Its Degradation through SCFSkp2 Ubiquitin Ligase Actions during Viral Lytic Replication. *J Biol Chem* 284:18923-31.
- 33) Zhang K, Lv DW, Li R. 2019. Conserved Herpesvirus Protein Kinases Target SAMHD1 to Facilitate Virus Replication. *Cell Rep* 28:449-459 e5.
- 34) Lee CP, Huang YH, Lin SF, Chang Y, Chang YH, Takada K, Chen MR. 2008. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase induces disassembly of the nuclear lamina to facilitate virion production. *J Virol* 82:11913-26.
- 35) El-Guindy A, Lopez-Giraldez F, Delecluse HJ, McKenzie J, Miller G. 2014. A locus encompassing the Epstein-Barr virus *bgf4* kinase regulates expression of genes encoding viral structural proteins. *PLoS Pathog* 10:e1004307.
- 36) Sato Y, Tsurumi T. 2010. Noise cancellation: viral fine tuning of the cellular environment for its own genome replication. *PLoS Pathog* 6:e1001158.
- 37) Furnari FB, Adams MD, Pagano JS. 1992. Regulation of the Epstein-Barr virus DNA polymerase gene. *J Virol* 66:2837-45.
- 38) McKenzie JL, Dhillon RS, Schulte PM. 2015. Evidence for a bimodal distribution of hybrid indices in a hybrid zone with high admixture. *R Soc Open Sci* 2:150285.
- 39) Djavadian R, Chiu YF, Johannsen E. 2016. An Epstein-Barr Virus-Encoded Protein Complex Requires an Origin of Lytic Replication In Cis to Mediate Late Gene Transcription. *PLoS Pathog* 12:e1005718.
- 40) Li D, Fu W, Swaminathan S. 2018. Continuous DNA replication is required for late gene transcription and maintenance of replication compartments in gamma-herpesviruses. *PLoS Pathog* 14:e1007070.
- 41) Liu C, Sista ND, Pagano JS. 1996. Activation of the Epstein-Barr virus DNA polymerase promoter by the BRLF1 immediate-early protein is mediated through USF and E2F. *J Virol* 70:2545-55.
- 42) Lin WC, Lin FT, Nevins JR. 2001. Selective induction of E2F1 in response to DNA damage, mediated by ATM-dependent phosphorylation. *Genes Dev* 15:1833-44.
- 43) Stevens C, Smith L, La Thangue NB. 2003. Chk2 activates E2F-1 in response to DNA damage. *Nat Cell Biol* 5:401-9.
- 44) Sato Y, Watanabe T, Suzuki C, Abe Y, Masud H, Inagaki T, Yoshida M, Suzuki T, Goshima F, Adachi J, Tomonaga T, Murata T, Kimura H. 2019. S-Like-Phase Cyclin-Dependent Kinases Stabilize the Epstein-Barr Virus BDLF4 Protein To Temporally Control Late Gene Transcription. *J Virol* 93:e01707-18.
- 45) Watanabe T, Narita Y, Yoshida M, Sato Y, Goshima F, Kimura H, Murata T. 2015. The Epstein-Barr Virus BDLF4 Gene Is Required for Efficient Expression of Viral Late Lytic Genes. *J Virol* 89:10120-4.
- 46) Sugimoto A, Kanda T, Yamashita Y, Murata T, Saito S, Kawashima D, Isomura H, Nishiyama Y, Tsurumi T. 2011. Spatiotemporally different DNA repair systems participate in Epstein-Barr virus genome maturation. *J Virol* 85:6127-35.
- 47) Sugimoto A, Sato Y, Kanda T, Murata T, Narita Y, Kawashima D, Kimura H, Tsurumi T. 2013. Different distributions of Epstein-Barr virus early and late gene transcripts within viral replication compartments. *J Virol* 87:6693-9.
- 48) Jochum S, Moosmann A, Lang S, Hammerschmidt W, Zeidler R. 2012. The EBV immunoevasins vIL-10 and BNLF2a protect newly infected B cells from immune recognition and elimination. *PLoS Pathog* 8:e1002704.
- 49) Jochum S, Ruiss R, Moosmann A, Hammerschmidt W, Zeidler R. 2012. RNAs in Epstein-Barr virions control early steps of infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:E1396-404.
- 50) Wang C, Li D, Zhang L, Jiang S, Liang J, Narita Y, Hou I, Zhong Q, Zheng Z, Xiao H, Gewurz BE, Teng M, Zhao B. 2019. RNA Sequencing Analyses of Gene Expression during Epstein-Barr Virus Infection of Primary B Lymphocytes. *J Virol* 93.
- 51) Altmann M, Hammerschmidt W. 2005. Epstein-Barr virus provides a new paradigm: a requirement for the immediate inhibition of apoptosis. *PLoS Biol* 3:e404.
- 52) Ma SD, Hegde S, Young KH, Sullivan R, Rajesh D, Zhou Y, Jankowska-Gan E, Burlingham WJ, Sun X, Gulley ML, Tang W, Gumperz JE, Kenney SC. 2011. A new model of Epstein-Barr virus infection reveals an important role for early lytic viral protein expression in the development of lymphomas. *J Virol* 85:165-77.
- 53) Okuno Y, Murata T, Sato Y, Muramatsu H, Ito Y, Watanabe T, Okuno T, Murakami N, Yoshida K, Sawada A, Inoue M, Kawa K, Seto M, Ohshima K, Shiraiishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Narita Y, Yoshida M, Goshima F, Kawada JI, Nishida T, Kiyoi H, Kato S, Nakamura S, Morishima S, Yoshikawa T, Fujiwara S, Shimizu N, Isobe Y, Noguchi M, Kikuta A, Iwatsuki K, Takahashi Y, Kojima S, Ogawa S, Kimura H. 2019. Defective Epstein-Barr virus in chronic active infection and haematological malignancy. *Nat Microbiol* 4:404-413.
- 54) Sato Y, Ochiai S, Murata T, Kanda T, Goshima F, Kimura H. 2017. Elimination of LMP1-expressing cells from a monolayer of gastric cancer AGS cells. *Oncotarget* 8:39345-39355.

# **Dynamic changes of cellular environment during Epstein-Barr virus productive replication**

**Yoshitaka SATO<sup>1), 2)</sup>**

1) Department of Virology, Nagoya University Graduate School of Medicine

2) JST PRESTO

Productive (lytic) replication of DNA viruses elicits host cell DNA damage responses, which cause both beneficial and detrimental effects on viral replication. Viruses utilize them and selectively cancel the 'noisy' downstream signaling pathways, leading to maintain high S-phase CDK activities required for viral replication. To achieve this fine tuning of cellular environment, herpesviruses encode many (>70) genes in their genome, which are expressed in a strictly regulated temporal cascade (immediate-early, early, and late). Here, I introduce and discuss how Epstein-Barr virus, an oncogenic herpesvirus, hijacks the cellular environment and adapt it for the progeny production.

