

Title	Functional Classification of Simian Immunodeficiency Virus Isolated from a Chimpanzee by Transactivators
Author(s)	櫻木, 淳一
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39033
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	さくらぎ じゅんいち 櫻 木 淳 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 11779 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Functional Classification of Simian Immunodeficiency Virus Isolated from a Chimpanzee by Transactivators (トランスアクチベーターを用いたチンパンジー由来サル免疫不全ウイルス (SIVcpz) の機能的分類)
論文審査委員	(主査) 教授 上田 重晴 (副査) 教授 栗村 敬 教授 山西 弘一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

現在までに多くの霊長類レンチウイルスが、ヒトを含む霊長類から分離されている。HIV-1, HIV-2 (ヒト由来), アカゲザル由来サル免疫不全ウイルス SIVmac, スーティマンガベイ由来 SIVsmm, ブタオザル由来 SIVmne, アフリカミドリザル由来 SIVagm, マンドリル由来 SIVmnd 等がある。これらの SIV は遺伝的にも生物学的にも HIV-1 に近縁なウイルスではあるが、HIV-1 と全く同じ遺伝子配置を持ったウイルスは今まで見い出されていなかった。これらのウイルスはその遺伝子塩基配列の相同性から4つのサブグループに分類されている。すなわち、HIV-1, HIV-2 (SIVmac, smm, mne を含む), SIVagm, SIVmnd の4グループである。近年チンパンジーから新たに霊長類レンチウイルスが分離され、SIVcpz と名付けられた。SIVcpz はその塩基配列相同性、遺伝子配置からみてこれまでに見つかっていなかった HIV-1 グループに属する SIV であると考えられた。さらに SIVcpz は HIV-1 グループ内ではやや離れたところに位置し、今まで謎であった HIV と SIV を結ぶミッシング・リンクではないかとも考えられている。

私はこれまでに霊長類レンチウイルスが持っている2つのトランスアクチベーター、tat と rev それぞれのグループ間での互換性から、HIV-1 グループが機能面で他の3グループからやや遠いところにあることを報告してきた。SIVcpz についての研究は HIV-1 の起源を知る上で重要であるので、本研究ではこれまでと同様のシステムを用いて HIV-1 と SIVcpz との機能的な類縁関係を解析した。

【方法及び成績】

tat 遺伝子産物はウイルス LTR 領域内に存在する TAR (Trans-Acting Responsive element) と呼ばれる部分の mRNA と結合することによって LTR の転写活性を高めることが知られている。また rev 遺伝子産物はウイルス env 遺伝子内にある RRE (Rev Responsive Element) 領域の mRNA のとる二次構造に結合して、RRE をもった mRNA の細胞質移行を促進する。SIVcpz の TAR・RRE 部分の RNA の二次構造予想図と、tat, rev のアミノ酸配列をコンピュータで作成し、各グループのウイルスと比較した結果、形状・機能領域などの点で SIVcpz は HIV-1 と最も相同点が多かった。特に作用標的部分の RNA の二次構造は、HIV-1 と SIVcpz では塩基配列が相当異なるにも関わらず、非常に似通った構造を呈した。

つぎに、実際の遺伝子機能のウイルス間における互換性をみるために4種類のベクターを霊長類レンチウイルス5

種のDNAクローン (HIV-1 NL432/HIV-2 GH123/SIVagm SA212/SIVmnd MD121/SIVcpz CP101) 各々について遺伝子工学的手法により作成した。ウイルスの調節遺伝子①tatと②revの各々の発現ベクター、tatの作用標的であるウイルス転写プロモーター領域LTRを単離してバクテリア由来クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) の上流に組み込んだ③LTR-CATプラスミド、HIV-1感染性クローン pNL432の、RREに当たる部分を他のウイルスクローンの相同箇所と入れ替えたうえ、rev領域を失活させて nef 遺伝子内にCAT遺伝子を挿入した④NLnCAT-RREプラスミドの4種である。LTR-CATはLTRと反応性のあるtatの存在でLTRの転写量が増大してCATの発現量が上がる。NLnCAT-RREはRREと反応性のあるrevの存在によって nef 遺伝子領域のmRNAの発現が増大し、やはりCATの発現量が上がるレポーターであり、どちらもCATの発現量を定量的に調べることで調節遺伝子の作用の大小を捉えることができる。

まず、tat遺伝子の遺伝子活性化作用の互換性を解析した。HIV-1とSIVcpzのLTR-CATに各ウイルスのtatを作用させて活性化効率をみると、双方のLTRは、HIV-1、HIV-2のtatで強く活性化されたが、SIVcpz、SIVmndのtatではやや弱く、SIVagmでは非常に弱い活性化であり、HIV-1とSIVcpzのそれぞれの反応は全くパラレルであった。またSIVcpzのtatによる各種LTRの活性化をみても、HIV-1のtatによる活性化と区別できなかった。

つぎに、rev発現ベクターとNLnCAT-RREを用いてrev遺伝子の遺伝子活性化作用の互換性の解析を行った。rev遺伝子による作用の互換性はAll or None的であった。すなわち、HIV-1とSIVcpzのNLnCAT-RREに各ウイルスのrevを作用させて活性化をみると、双方のレポーターは、HIV-1、SIVcpzのrevでのみ強く活性化され、他のrevには全く反応しなかった。一方、SIVcpzのrevによる各種レポーターの活性化はSIVmndのみやや弱く、他のウイルスは良好に活性化され、HIV-1のrevによる場合と全く同様であった。

【総括】

上記の実験で、ウイルストランスアクチベーターの機能からHIV-1とSIVcpzを区別することはできなかった。SIVcpzが今まで見つかったどのHIV-1株よりも遺伝的に遠いところにあるにもかかわらず、HIV-1との機能的な相似が保たれていたことは非常に興味深い。このことは、チンパンジーがHIV-1に感染可能な動物としては、最もヒトに近い動物であることと関係があると思われる。また、tat、revともにその作用には宿主側因子が必須であることが指摘されていたが、特にrev-RREの反応に必要な因子はきわめて狭い宿主特異性があることがこの実験からも明らかとなった。HIV-1の増殖に関わる何らかの因子はヒトとチンパンジーのみに特異的に存在するとも考えられ、動物宿主側からのこうした因子の追求がHIV-1の特異性、病原性等の手がかりとなることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

エイズの蔓延は世界的な恐怖を巻き起こしているが、その病原体であるヒト免疫不全ウイルス (Human Immunodeficiency Virus ; HIV-1/2) の増殖機構や起源には未だ不明の点が多々残されている。HIV類似のウイルスが多くサルでも見つかっており (サル免疫不全ウイルス, Simian Immunodeficiency Virus ; SIV), HIVの祖先ではないかという推測もなされている。なかでも、チンパンジー由来のSIVcpzはその遺伝子塩基配列の相同性、遺伝子の配置からみて、これまでに見つかっていなかったHIV-1グループに属するSIVであると考えられてきた。さらに、SIVcpzはHIV-1グループ内ではやや離れたところに位置し、今まで謎であったHIVとSIVを結ぶミッシング・リンクではないかとも考えられている。

本研究では、HIV-1とSIVcpzの進化的・分類的位置関係を多元的視点から明らかにする目的で、霊長類レンチウイルスが持っている2つのトランスアクチベーター、TatとRevのそれぞれのウイルスグループ間での互換性に着目し、HIV-1とSIVcpzとの機能的な類縁関係を解析した。また、霊長類レンチウイルスそれぞれの調節遺伝子の1次構造や、その作用標的の立体構造からもその類縁関係について考察した。

その結果、SIVcpzは遺伝子の構造上ではHIV-1と最も近縁であったが、現在までに見つかったHIV-1の株間の相同性よりはかなり離れていた。しかし、遺伝子機能で見るとHIV-1とSIVcpzの間では調節遺伝子の互換性が

完全に成立すること、また、自己の調節遺伝子は他グループの作用標的を十分に活性化するが、自己の作用標的は他グループの調節遺伝子の作用を受けにくいという、HIV-1 に特異的な性格が SIV_{cpz} にも同様に存在する事を明らかにすることができた。

本研究は HIV-1 の起源やレンチウイルスの機能的進化を考える上で、また、HIV-1 の調節遺伝子の宿主側補助因子の解析に対して示唆に富む研究であり、学位の授与に値するものと評価できる。