



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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	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 (トランスクレ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】

現在までに多くの靈長類レンチウイルスが、ヒトを含む靈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靈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。

私はこれまでに靈長類レンチウイルスが持っている2つのトランスクレベーター、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と最も相同意が多かった。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種類のベクターを靈長類レンチウイルス5

種のDNAクローニング (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 感染性クローニング pNL432の, RRE に当たる部分を他のウイルスクローニング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 が今まで見つかってきたどの 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の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・分類的な位置関係を多元的視点から明らかにする目的で, 犬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, 犬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SIVcpzにも同様に存在する事を明らかにすることことができた。

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。