

| | |
|--------------|---|
| Title | HIV-1複製に關与する新規宿主因子AP2 α のウイルス増殖抑制機序の解析 |
| Author(s) | 北川, 友紀子 |
| Citation | 大阪大学, 2008, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/49237 |
| 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 | 北 川 友 紀 子 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (歯 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 2 1 9 1 0 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 20 年 3 月 25 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻 |
| 学 位 論 文 名 | HIV-1 複製に関与する新規宿主因子 AP2 α のウイルス増殖抑制機序の解析 |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 由 良 義 明 (副査) 教 授 川 端 重 忠 准教授 中 原 寛 和 講 師 上 松 節 子 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目的と意義】

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) は後天性免疫不全症候群 (AIDS) を引き起こす原因ウイルスである。HIV-1 の複製は多くの宿主因子が関与する複雑な機構で制御されている。HIV-1 複製に影響を与える新規宿主因子を見つけるため、私達の研究グループでは過去にシグナル伝達や細胞内輸送、細胞骨格に関与する機能分子として選出した細胞因子に対する 257 種の siRNA (siRNA mini-library) を用いたスクリーニングを行った。その中で adapter-related protein complex 2 alpha 1 subunit (AP2 α) に対する siRNA は最も効果的に HIV-1 複製を上昇させ、ウイルス生活環の蛋白発現までの段階で複製を抑制する因子として同定された。本研究では、HIV-1 複製機構の解明と新たな抗 HIV-1 薬の開発を目的とし、AP2 α の HIV-1 複製抑制機序の解析を行った。

【材料と方法】

細胞は 293T 細胞、MAGIC5A (CCR5 発現 MAGI) 細胞及び J111 細胞を用いた。ウイルスは水泡性口内炎ウイルスの外皮蛋白 (VSVG) シュードタイプ HIV-1 (HIV-1/VSVG)、X4 および R5 指向性 HIV-1 (HIV-1/X4 および HIV-1/R5) を用いた。AP2 α が HIV-1 複製に与える影響を検討するため、AP2 α に対する siRNA 導入細胞に HIV-1/VSVG、HIV-1/X4 および HIV-1/R5 を感染させルシフェラーゼアッセイを行った。AP2 α の endocytosis への関与はフローサイトメトリーにて検討した。ウイルス吸着、侵入段階の解析には HIV-1 Gag p24 ELISA 法を、逆転写段階の解析は感染細胞より細胞 DNA を抽出しウイルス逆転写初期および後期産物を real-time PCR にて検出した。ウイルス DNA の核内移行段階の解析には nested real-time PCR を、インテグレーション段階の解析には Alu real-time PCR を行った。AP2 α の細胞内局在の解析には蛍光抗体法を用いた。

【結果】

スクリーニングにおいて AP2 α siRNA の導入により HIV-1/VSVG の複製が増加したという現象が HIV-1/X4 および HIV-1/R5 でも認められるのか検討を行ったところ同様の傾向がみられた。さらに AP2 α の HIV-1 複製抑制機序を明らかにするためウイルス複製段階ごとに検討を行った。その結果 AP2 α siRNA の導入により HIV-1 の吸着、侵入、逆転写段階は影響を受けなかったが、それとは対照的に HIV-1 DNA の核内移行段階およびインテグレーション段階は著しく促進された。蛍光抗体法を用いた解析では、AP2 α の一部は細胞質に局在するのみならず核膜の構成蛋白である lamin B や、HIV-1 複製においてウイルス DNA の核内移行段階を細胞質または核周囲領域で抑制する importin

β や Nup153 と共局在していた。

【考察と結論】

AP2 α は細胞膜周辺での clathrin 介在性 endocytosis 以外の機序で、ウイルス DNA の核内移行段階においてウイルス複製を抑制していることが明らかになった。AP2 α が一部、HIV-1 DNA の核内移行に関与する Nup 153 や importin β と共局在していたことは、AP2 α が核輸送機構の制御に関与している可能性を示唆するものである。今回の研究結果から、AP2 α は HIV-1 生活環の前期過程でウイルス複製を阻害する新たな標的因子となると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は HIV-1 複製に関与する宿主因子 adapter-related protein complex 2 alpha 1 subunit (AP2 α) のウイルス増殖抑制機序の解析を行ったものである。

その結果、AP2 α は HIV-1 DNA の核内輸送過程で HIV-1 複製を阻害していることが明らかとなった。

以上の研究結果は、HIV-1 複製機構の解明ならびに新規抗 HIV-1 薬の開発において極めて重要な知見を与えるものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。