

Title	Modification of a loop sequence between α -helices 6 and 7 of virus capsid (CA) protein in a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) derivative that has simian immunodeficiency virus (SIVmac239) vif and CA α -helices 4 and 5 loop improves replication in cynomolgus monkey cells
Author(s)	黒石, 歩
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54166
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	黒石歩
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23614 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Modification of a loop sequence between α -helices 6 and 7 of virus capsid (CA) protein in a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) derivative that has simian immunodeficiency virus (SIVmac239) vif and CA α -helices 4 and 5 loop improves replication in cynomolgus monkey cells (ヒト免疫不全ウイルスのカニクイザル細胞でのウイルス複製は、カプシドの α ヘリックス4-5間のループ及びvif遺伝子に加え、 α ヘリックス6-7間のループ構造の置換で改善される)
論文審査委員	(主査) 教授 塩田 達雄 (副査) 教授 生田 和良 教授 松浦 善治

論文内容の要旨

〔目的〕

ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)はヒト及びチンパンジーに感染するが、カニクイザル等の旧世界ザルには感染しない。この極めて狭い宿主域により動物モデルを得られないことは、後天性免疫不全症候群(acquired immune deficiency syndrome; AIDS)の病態理解を困難なものとしている。この解決策としてこれまでにいくつかのHIV-1とサル免疫不全ウイルス(SIV)のキメラウイルスが構築されているが、このうちカニクイザルなどの旧世界ザルの細胞で複製可能でかつ最もSIV由来の領域の少ないウイルスはカプシドのHelix 4-5間のループ(L4/5)と、ウイルス複製には必須ではない修飾遺伝子vifをSIVmacの相同配列に置換したものである。この置換によりサル細胞にて感染抑制に働く宿主因子であるCyclophilin A(CypA)とAPOBEC3による感染阻害からの回避が可能となるが、同じく抗ウイルス活性をもつ宿主因子TRIM5 α による感染阻害については不明であった。一方、ヒト免疫不全ウイルス2型(HIV-2)のカニクイザルTRIM5 α による感染阻害への感受性決定基はカプシドのHelix 6-7間のループ(L6/7)上の120番目の1アミノ酸であることが知られている。そこで、HIV-1のカプシドL6/7に新たな置換を導入することでよりサル細胞で増殖効率の良いHIV-1の作製を試みた。

〔方法ならびに成績〕

HIV-1の感染性分子クローンNL4-3に、SIVmac239由来の配列を導入した。L4/5、vifに加え、カプシドのL6/7をSIVmacの配列に置換したウイルスは、サル細胞株およびCD8陽性細胞を除いた末梢血単核細胞にてより効率的な増殖

能を呈した。このことから L4/5 だけでなく、L6/7 もサル細胞内の宿主因子による複製抑制に重要であることが示された。ウイルス粒子のウェスタンブロット解析から、L6/7 の置換は宿主因子である CypA とカプシドとの結合には影響しないことを、確認した。また、ウイルス粒子によるサル細胞内の TRIM5 α 等の阻害性宿主因子の飽和能について検討したところ、L4/5 および L6/7 の両ループを置換した粒子は阻害性宿主因子に対する飽和能が顕著に低下していた。このことから、宿主因子、主に TRIM5 α との結合においては L4/5、L6/7 の両ループが重要であることが示された。

〔総括〕

カプシドの L4/5 に加え、L6/7 も SIVmac 由来にすることで、サル細胞においてより効率よく増殖するウイルスの作製に成功した。この増殖効率の改善は、L6/7 の置換によりサル細胞における TRIM5 α 等の感染抑制性の宿主因子との結合が低下していた為であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) はヒト及びチンパンジーに感染するが、カニクイザル等の旧世界ザルには感染しない。この極めて狭い宿主域により動物モデルを得られないことは、後天性免疫不全症候群 (acquired immune deficiency syndrome; AIDS) の病態理解を困難なものとしている。本研究は宿主因子 TRIM5 α によるヒト免疫不全ウイルス 2 型の感染抑制の研究で得られた知見をもとに、サルにおいて効率よく複製する HIV-1 の作製を目的とした。結果、これまでに報告のある vif 遺伝子、カプシドの L4/5 に加え、L6/7 をサル免疫不全ウイルス (SIV) 由来の配列に置換することで、ウイルスはサル細胞においてより効率よく増殖が可能となった。この結果は AIDS のモデル動物の作製、ひいては病態理解につながる重要な知見であり、学位の授与に値すると思われる。