



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、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	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プロット解析から、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考えられる。