

氏名	たなかまさかず 田中 正 和
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2622 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科病理系専攻
学位論文題目	Downregulation of CD4 is required for maintenance of viral infectivity of HIV-1 (CD4 発現調節を介した HIV-1 感染性制御機構に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 松岡雅雄 教授 速水正憲 教授 下遠野邦忠

論 文 内 容 の 要 旨

エイズの病原ウイルスである HIV-1 は標的細胞表面の CD4 分子を主要なレセプターとして利用している。HIV-1 感染細胞では CD4 の発現が抑制されていることが知られており、その機能にはウイルスのコードする *vpu*, *nef* および *env* 遺伝子産物が関与していることが報告されている。しかしながら、HIV-1 の複製において CD4 の発現抑制がどのような意義を持つのかは明らかではない。この研究では HIV-1 の *vpu* および *nef* の欠損変異体を利用して、CD4 発現抑制がウイルスの感染性に与える影響について解析した。

まず *vpu* および *nef* 欠損ウイルスを T 細胞株に感染させ、その増殖性を確認した。*vpu* 変異体は、感染後のウイルス産生の時間的推移、つまり感染細胞の拡がりや野生型と同程度であったが、ウイルス産生量は約 1/5 に低下していた。*nef* 変異体では、野生型に比べウイルス産生の時間推移に若干の遅れが認められた。*vpu/nef* の二重変異体ではウイルス産生量の低下に加え、時間推移に顕著な遅れが観察された。

vpu/nef 二重変異によってウイルス複製に顕著な影響が認められた原因として、それぞれの遺伝子産物が CD4 の発現抑制を介して、ウイルスの感染性に対して相乗的に作用していた可能性が考えられた。そこで、ウイルス産生細胞における CD4 発現の有無が各変異ウイルスの感染性に与える効果を検討した。野生型ウイルスの感染性は CD4 の発現によって変化しなかった。*nef* 変異体は野生型に比べ低い感染性を示したが、CD4 発現の影響はほとんど受けなかった。それに対し、*vpu* および *vpu/nef* 変異体は CD4 発現によって顕著な感染性の低下を示した。

CD4 発現細胞から産生された *vpu* および *vpu/nef* 変異ウイルス粒子に質的な違いがあるかを、ウイルス特異抗原および CD4 発現を検出することによって検討した。ウイルス粒子中のウイルスタンパク組成は、ウイルス産生細胞における CD4 発現の有無や、それぞれの遺伝子の変異による影響を受けなかった。各変異ウイルスによる細胞内 CD4 の発現抑制を検討したところ、Vpu が CD4 の発現抑制に寄与していることが明らかとなった。*nef* の変異による CD4 発現量への影響はほとんど認められなかった。次にウイルス粒子中への CD4 取込みを確認した。野生型や *nef* 変異ウイルス粒子には CD4 は検出されなかったが、*vpu* 変異ウイルスでは有意の取込みが検出された。また *vpu/nef* 二重変異体では、その取込み量が顕著に増加していた。

vpu および *vpu/nef* 変異ウイルスで認められた感染性の低下が、ウイルス粒子への CD4 の取込みと相関することから、取り込まれた CD4 がウイルス粒子表面で Env と会合し、ウイルスの標的細胞への吸着を阻害している可能性が考えられた。そこで各変異ウイルス粒子の CD4 陽性細胞への吸着効率を検討した。CD4 陽性細胞由来のウイルスでは、*vpu* の変異によって吸着効率が有意に低下し、*vpu/nef* 二重変異によって更に著しい低下が観察された。このことから *vpu* や *vpu/nef* 変異体では、CD4 の取込みによってウイルスの吸着過程が阻害され、感染性が低下していたものと考えられた。

先の実験から、Nef の発現はウイルス産生細胞内での CD4 の総発現量に対してほとんど影響を与えないことが分かったが、Nef は選択的に細胞表面 CD4 の発現を抑制することが報告されている。そこで細胞表面の CD4 発現を確認したところ、

Nefによる有意の発現抑制が示された。細胞表面でのCD4発現抑制はウイルスの重感染阻止に機能すると考えられる。*nef*変異ウイルスによる重感染阻止を検討したところ、その能力は野生型に比べ顕著に低下していた。

VpuおよびNefによるCD4発現抑制は重複した機能のように考えられていたが、今回の解析からウイルスの感染性促進と重感染阻止という役割分担があることが示された。Vpu, Nef, 更にEnvはそれぞれ異なる作用機序を介してCD4発現を制御しており、その生物学的な意義は多様である可能性が考えられる。感染個体内でのウイルス複製や潜伏化、また重感染状態でのウイルス株間の遺伝子組換えなどは、エイズ病態を理解する上で重要なトピックである。今後、各遺伝子によるCD4発現制御がこれらの現象においてどのような役割を果たしているのか検討したい。

論文審査の結果の要旨

エイズの病原ウイルスとして知られるHIV-1 (human immunodeficiency virus type 1) は標的細胞表面のCD4分子を主要なレセプターとして利用している。HIV-1感染細胞では、ウイルスのコードする複数の遺伝子機能 (Env, Vpu, Nef) によって細胞表面のCD4発現が抑制されていることが知られている。申請者は、HIV-1遺伝子機能によるCD4の発現抑制が、ウイルスの複製にどのような意義を持ち、またそれぞれの遺伝子産物 (Vpu, Nef) によるCD4発現抑制に機能的な役割分担があるのかを検討した。

HIV-1ウイルス粒子の感染性に対するCD4発現の影響を調べた結果、細胞内に発現しているCD4はウイルス粒子へと取り込まれ、ウイルス粒子の吸着効率を阻害することでその感染性を低下させることを見出した。制御遺伝子の一つであるVpuは細胞内のCD4を分解することで、このようなCD4によるウイルス感染性の低下を防ぐ機能を有することが示された。一方Nefは、細胞に発現しているCD4の全体量にはほとんど影響しないが、細胞表面CD4の発現量を選択的に低下させていた。このNefによるCD4発現抑制はHIV-1の重感染の阻止する役割があることが示された。よって、CD4発現とウイルス感染性の関連を分子生物学的に示した点は注目に値する。

以上の研究は、HIV-1の複製機構の解明に貢献し、ウイルス感染症の理解に寄与するところが多い。

従って本論文は、博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお本学位授与申請者は、平成15年2月25日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。