

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 田中 純

本論文は2章からなり、論文全体を通じてヒト免疫不全ウイルス（HIV-1）全長を導入したトランスジェニックマウス（HIV マウス）を用いて研究を行っている。第1章では、リポポリサッカライド（LPS）による HIV-1 遺伝子活性化に対する TNF- α 、IL-1 α/β 、IL-6、IFN- γ の役割を各種サイトカイン遺伝子を欠損した HIV マウスを用いて検討し、第2章では、HIV-1 再活性化に対するメチル化・脱メチル化の役割を細胞分裂と絡めて解析している。また、その前後に緒言、総括および参考論文の記載がなされている。

申請者は第1章で、HIV-1 遺伝子活性化に対するサイトカインの役割を検討した。まず、HIV マウスに LPS を投与することにより、HIV-1 遺伝子の発現が脾臓やリンパ節で著明に亢進することを明らかにした。このとき HIV-1 遺伝子活性化に先行して発現が誘導される TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IFN- γ などのサイトカインの役割を明らかにするために、TNF- α 、IL-1 α/β 、IL-6、IFN- γ 各種サイトカイン遺伝子欠損 HIV マウスを作製し、LPS 投与による HIV-1 遺伝子活性化レベルを比較検討した。その結果、TNF- α および IL-1 α/β 遺伝子欠損 HIV マウスでは LPS 投与時の HIV-1 遺伝子発現が野生型マウスに比べ有意に低下していたのに対し、IL-6 や IFN- γ 遺伝子欠損 HIV マウスでは差はみられなかったことから、LPS 刺激による HIV-1 遺伝子の活性化には主として TNF- α や IL-1 が関与していることを明らかにした。更に TNF- α や IL-1 刺激により活性化される p38 MAP キナーゼの阻害剤 SB203580 を用いて、TNF- α や IL-1 の下流で p38 MAP キナーゼが関与している可能性を示した。

また申請者は、第2章で HIV-1 のプロモーターである Long Terminal repeat (LTR)のメチル化と HIV-1 遺伝子再活性化について詳細な検討を行っている。まず、脱メチル化剤 5'-AzaC 処理により HIV-1 遺伝子発現が LPS 単独刺激と比較して著明に亢進することか

ら、HIV-1 再活性化に対するメチル化の関与を示唆した。次に HIV マウス個体レベルで、LPS 刺激により HIV-1 遺伝子発現が誘導された時にのみ LTR 内のメチル化部位が脱メチル化されることを配列解析により示した。次に細胞内蛍光色素 CFSE を用いて、LPS 刺激による HIV-1 遺伝子発現誘導が細胞分裂を起こした細胞でのみ認められ未分裂の細胞では認められないこと、および細胞周期の停止剤により細胞周期をどの段階で停止させても HIV-1 遺伝子発現が認められなくなったことから、HIV-1 遺伝子再活性化には細胞分裂が必須であることを明らかにした。更に LPS 刺激後、細胞分裂を経て HIV-1 発現が認められる細胞群と未分裂で HIV-1 発現が認められない細胞群を分画し配列解析結果を比較することにより、HIV-1 遺伝子を発現している細胞では、HIV-1 LTR にある 7ヶ所のメチル化部位のうち、CREB/ATF 結合部位である 5' 側から 2 番目と 5 番目のメチル化部位が特異的に脱メチル化されていることを示した。これらの結果より、LPS 刺激による HIV-1 再活性化には、細胞分裂に依存した HIV-1 LTR 内にある CREB/ATF 結合部位の脱メチル化が関与していることを明らかにした。

以上本研究により、LPS 刺激による HIV-1 遺伝子の再活性化には TNF- α および IL-1 が主要な役割を果たすこと、および細胞分裂を介した HIV-1 LTR 内にある CREB/ATF 結合部位の脱メチル化が重要であることが動物個体を使って初めて明らかにされた。これらの成果は、新たな HIV-1 遺伝子再活性化機構の存在を明らかにしたものであり、ウイルス学の進歩に貢献するものである。また、この研究成果は、AIDS 発症を抑制する新たな方法を創出する一助になることが期待でき、人類の福祉に貢献するものである。

なお本論文において、サイトカインの役割に関する研究は、尾崎秀徳、安田二郎、宝来玲子、田川陽一、浅野雅秀、西城忍、今井光信、関川賢二、Manfred Kopf、岩倉洋一郎と、またメチル化と再活性化に関する研究は、石田高尚、チェ・ビョンイル、渡邊俊樹、安田二郎、岩倉洋一郎と共著であるが、論文全般を通じて申請者が主体となって研究を行っており、申請者の寄与が十分であると判断した。

従って、博士（農学）の学位を授与できると認める。