

ヒト免疫不全ウイルス(human immunodeficiency virus: HIV)は後天性免疫不全症候群(aquired immune deficiency syndrome: AIDS)の原因ウイルスである。HIV-1 は多くのアクセサリ-遺伝子を有しており、アクセサリ-遺伝子はウイルスの複製・増殖に関するのみならず持続感染や病態発現に重要な役割を果たすことが明らかにされてきた。しかし、その分子レベルでの作用機序についてはまだ多くの謎が残されている。本論文では、このようなアクセサリ-遺伝子の中でも近年特に注目されている *vif* 及び *nef* 遺伝子に着目し、その機能発現に関わる分子機構を明らかにすることを目的としている。

第 1 章 Nef 蛋白による MHC-I 発現制御機構に関する研究

nef 遺伝子は AIDS 発症に重要な役割を果たしている事がアカゲザルにおける SIV 感染実験や AIDS 長期未発症者由来の HIV 遺伝子解析結果から示唆されている。特に MHC-I 発現抑制機能は、ウイルスが宿主の細胞性免疫を回避するといった重要な役割を果たしており興味深い。しかし、その分子メカニズムは未だに不明の部分が多い。

これまで Nef の N 末端側の Met20 及び EEEE62-65 が MHC-I 発現抑制を規定していることは知られているが、その詳細は不明である。一方、Nef のようなミリスチル化蛋白では N 末端の塩基性クラスターがミリスチル基による膜局在を補強することが知られている。この事実に着目し、Nef の Met20 の近傍にある塩基性クラスターが MHC-I 発現抑制機能に果たす役割を検証するため、この塩基性クラスターの置換変異体 (Arg Ala:4A 変異体) を作成し、MHC-I 発現抑制機能を解析した。その結果、塩基性クラスター自体は MHC-I 発現抑制に関与していない事が示唆された。

次に Met20 周辺における保存性の高いアミノ酸残基の検討を行ったところ、Met20 に加えて Trp13、Val16 が Nef の MHC-I 発現抑制機能に関与している事が明らかとなった。この 3 アミノ残基の機能的意義を解析する目的で、これまで報告のある NMR データを元に構造

解析シミュレーションを行った。その結果、Val16・Met20はその側鎖でミリスチル基と、またTrp13はTrp5の側鎖とそれぞれ疎水結合する事による三次構造変換、いわゆるミリスチル・スイッチがMHC-I発現抑制機能の発現に関与している可能性が初めて示された。本研究結果は、HIVによる宿主細胞性免疫からの回避機構を分子レベルで解明するための重要な知見であると考えられた。以上から、エイズウイルスは免疫機構の中心的プレーヤーであるCD4⁺T細胞への感染性及びCTLからの回避能力を持っていることが明らかになった。このことは、これまで多くのレトロウイルスが宿主との共存を果たしてきたのに相反し、エイズウイルスが宿主を死に至らしめる結果をもたらすこととなった。このようなウイルスの進化がもたらす人類への脅威が、僅か20kD程度のアクセサリ蛋白によって規定されていることは非常に興味深い。

第2章 Vif蛋白によるウイルス成熟過程の制御に関する研究

Vif蛋白は、抗HIV因子APOBEC3Gのプロテアソーム分解を促進することによりHIV感染性を増強することが知られている。一方、ウイルス内Vif蛋白(v-Vif)を増加させるとウイルス感染性が顕著に低下すると共に、ウイルスプロテアーゼによるGag p2/NCプロセシングが特異的に抑制されることも報告されている。この作用はVif N末端側領域により規定されていると考えられている。そこで本章では、v-Vifによるウイルス成熟制御作用に寄与する機能領域を明らかにし、v-Vifの機能解明の基盤とすることを目的としてリバーシジェネティック手法により、アミノ酸の欠失および置換を起こした多くのプロジェニーウイルスを作成し、研究をすすめた。その結果、Vif N末端の¹⁰VWQV¹³アミノ酸残基の欠失および置換変異体は発現量が増加しても感染性抑制効果及びGag p2/NCプロセシング阻害を起こさないこと、このv-Vif作用を規定するドメインそのものであることが示された。本研究結果は、v-Vifに関するこれまでの報告を実証すると共に、v-Vifのウイルス成熟制御作用に係る分子機構を解明する上で非常に重要な知見であると考えられる。

本論文はエイズウイルスのアクセサリ遺伝子に注目し、その機能をリバーシジェネティック法を用いて分子遺伝学的に証明したものであり、獣医学領域での貢献が多岐である。よって、審査委員一同、本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値あるものと認めた。