

審 査 結 果 の 要 旨

氏名 松岡 佐織

本研究において、抗ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) プロテアーゼ阻害薬の 1 つであるネルフィナビル (Nelfinavir、以下 NFV) を長期服薬した HIV-1 感染患者 1 名の血液から経時的に分離した HIV-1 株を用いてウイルス学的解析を行い、下記の結果を得た。

1. CCR5 発現-HeLa-CD4 細胞 (Magic-5 細胞) を用いて、NFV 長期服薬患者 1 例から経時的に提供していただいた血液を材料と、NFV 治療開始以前の血液から CL-1 を、NFV 治療開始後の血液から CL-2, CL-3, CL-4 株の 4 株を分離した。このうち、NFV 服薬開始 32 ヶ月後に分離された CL-4 株は高度 NFV 耐性を示しただけでなく、むしろ低濃度 NFV 存在下 (0.001-0.1 μ M) で感染効率の上昇が認められた。
2. CL-4 株に認められる NFV 存在依的な複製能が亢進する表現系の責任領域を推測するため、NFV の標的である protease 領域、及びその基質である gag 領域の遺伝子解析を行った。HIV-1 分子クローン NL4-3 及び CL-1 株の遺伝子配列と比較した結果、CL-4 株の Gag 及び PR 領域には NFV 治療開始以前から散発的に 3 4 アミノ酸変異が存在し、治療開始後 Matrix、PR 領域特異的に新たに 22 のアミノ酸

が同定された。

3. CL-4 株の各 Gag 領域に出現したアミノ酸変異の役割を明確にするため、Gag 及び PR 領域 (5.1kbp) を Matrix 領域 (MA)、CA 領域 N 末端領域 (NCA)、p2-NC 領域を含む CA 領域 C 末端領域 (CCA)、p1-p6 領域を含む PR 領域 (PR) の 4 つに分断し、pNL4-3 を遺伝子背景に Gag-protease 組換え HIV-1 パネルを作成し、組換え HIV-1 の増殖動態、競合 HIV-1 複製試験、NFV 感受性試験、ウェスタンブロットティング解析を行った。その結果、CL-4 株に認められる Gag 領域の MA 変異、CA-N 末端領域、CA-C 末端領域の変異は、それぞれ NFV 存在下、非存在下におけるプロテアーゼ変異体の複製能に正負の異なる影響を与え、CL-4 株に認められる NFV に対する形質は単一の領域のアミノ酸配列によって再現されるものではなく、Gag および PR 領域全域のアミノ酸配列の密接な相互作用があり初めて完全な NFV に対する CL-4 株の形質が発現可能となることを示した。

以上、本論文は、NFV 存在下における複製能亢進する現象は gag-PR の共進化が要因の一つであることを明確に示した。さらに本研究により分離された臨床分離株は、患者生体内のように特定の選択圧下が存在する環境において HIV-1 はその環境により高い適応度を上げる方向にウイルスは絶えず進化し続けているという一つの証拠を示したものと考えられる。以上の審査結果から、本論文は学位の授与に価するものと考えられる。