

## 〔課程-2〕

### 審査の結果の要旨

氏名 稲垣 奈都子

本研究は、細胞傷害性 T リンパ球の認識に影響するサル免疫不全ウイルス(SIV)のうち比較的保存性が高いゲノム領域にコードされる Gag カプシドタンパク(CA)の 1 アミノ酸置換を有する変異体の解析を行い、CA の N 末端ドメイン内のある 1 アミノ酸と C 末端ドメイン内の 1 アミノ酸の相互作用がウイルス複製に重要であることを *in vitro* および *in vivo* の両視点から明らかにしたものであり、具体的には下記の結果を得ている。

1. MHC-I ハプロタイプ 90-120-Ia 陽性アカゲサルを用いたワクチン接種群への SIVmac239 チャレンジ実験から、SIVmac239 複製がワクチン誘導 CTL により制御され、その際 Gag<sub>206-216</sub> エピトープ特異的 CTL 反応が重要であることを明らかにした。次に Gag<sub>206-216</sub> エピトープ領域のアミノ酸配列が同一の別の病原性 SIV 株 SIVsmE543-3 チャレンジ実験を行ったところ、感染初期の Gag<sub>206-216</sub> エピトープ特異的 CTL の二次反応は認められず、高い血中ウイルス量を維持したまま約 1 年あまりでエイズ発症に至った。Gag<sub>206-216</sub> エピトープの 1 アミノ酸前に位置する Gag205 番目のアミノ酸配列の違いに因り Gag<sub>206-216</sub> エピトープ特異的 CTL は SIVmac239 を認識するものの、SIVsmE543-3 を認識できないことが以前示された。この Gag<sub>206-216</sub> エピトープ特異的 CTL からのエスケープに結びつく Gag205 番目のアミノ酸置換 (GagD205E) の SIV 複製能への影響を調べるために、まず SIVmac239 野生型の Gag205 番目をアスパラギン酸 (D) から SIVsmE543-3 由来のグルタミン酸 (E) に置換した SIVmac239Gag205E 変異体を作製し、*in vitro* での複製能を検討した。この SIVmac239Gag205E 変異体のサル T 細胞株における複製能は、野生型に比べ低下していた。更に、この SIVmac239Gag205E を継代すると新たな代償性変異 (GagV340M) が追加され複製能が回復することを見出した。なお、ここで見出された Gag340 番目のアミノ酸変化は、SIVmac239 由来のバリン (V) から SIVsmE543-3 由来のメチオニン (M) への変化と一致していることが示された。

2. 構造的な相互作用を探るため、現時点で報告されている HIV-1 の CA 構造を

基に SIV CA の構造シミュレーション解析を行った。CA 単量体構造シミュレーション解析では、Gag205 は Gag がコードする CA 内の NTD に位置するのに対し、今回新たに見出された代償性変異 Gag340 は CA の CTD に位置しており分子内相互作用の可能性は低いことが示唆された。しかし、CA 六量体構造シミュレーション解析により両者のアミノ酸の分子間相互作用が示唆された。

3. *in vitro* core stability assay を用いて CA コアの安定性を検討したところ GagD205E 変異によりコアの安定性が低下し、GagV340M 追加変異により回復することが示され、CA 六量体での分子間相互作用を支持する結果が得られた。

4. SIVmac239Gag205E 変異体の複製能の低下によるウイルスライフサイクルへの影響を検討した。後期課程では野生型と同程度の逆転写酵素活性が認められたが、LuSIV 細胞を用いた前期課程での assay を行ったところ、差が見られた。従って、SIVmac239Gag205E 変異体では細胞内に侵入してから、逆転写により合成された viral DNA の宿主染色体への組み込みまでを含む前期過程の効率の低下が示された。

5. MHC-I ハプロタイプ 90-120-Ia 陽性サル of SIVmac239 感染慢性期に、GagD205E + GagV340M 変異が選択されることを見出した。培養細胞での SIVmac239Gag205E 継代実験で Gag205E から野生型の Gag205D に戻るのではなく GagV340M の追加変異の出現を認めたが、同様にサル個体においても GagD205E+V340M が選択された。このことは、Gag205D-Gag340V および Gag205E-Gag340M の相互作用の存在、つまり CA NTD の Gag205 番目と CA CTD の Gag340 番目間に機能的相互作用の存在が示唆された。

以上、本論文は Gag CA NTD-CTD の機能的相互作用の構造上の制約における重要性を *in vitro* だけでなく *in vivo* でも示す根拠を得た点で高い意義を有し、更に、得られた CA 構造上の制約はワクチン抗原デザインに有益な情報をもたらす点で重要であると考えられる。本研究は、学位の授与に値するものと考えられる。