

氏名	ささだあまね 笹田 亜麻子
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2990号
学位授与の日付	平成18年3月23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	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	APOBEC3G targets human T-cell leukemia virus type 1 (APOBEC3GはHTLV-1の感染性を阻害する)
論文調査委員	(主査) 教授 松岡雅雄 教授 速水正憲 教授 小柳義夫

### 論文内容の要旨

APOBEC3G (Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme-catalytic polypeptide like 3G) は、近年同定された宿主由来の抗 human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) 因子である。本分子はシチジン脱アミノ化酵素に保存されたアミノ酸配列を有し、HIV-1 ウイルス複製における逆転写の際に、ウイルスマイナス鎖 DNA に含まれるデオキシシチジンを脱アミノ化してデオキシウリジンに変換することにより、プラス鎖 DNA にデオキシグアノシン(G)からデオキシアデノシン(A)への高突然変異 (hypermutation) を生じさせ、ウイルスの感染性を阻害する。一方 HIV-1 virion infectivity factor (Vif) は、本分子と結合しユビキチンプロテアソーム系を用いて分解へと誘導することで、その抗ウイルス作用を打ち消す。今回、HIV-1 と同様のヒトレトロウイルスである human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) における APOBEC3G の抗ウイルス作用を検討し、本分子の広範な抗ウイルス活性を解析した。第1に、transfectionにより強制発現させた APOBEC3G が HTLV-1 ウイルス粒子中に取り込まれることを、sucrose gradientによるウイルス粒子精製にて証明した。また HTLV-1 感染 T 細胞株である MT-2 細胞から得られたウイルスを用いた検討で、endogenous な APOBEC3G のウイルス内への取り込みを認めた。第2に、HTLV-1 に感染した標的細胞内のプロウイルス DNA 量を real-time quantitative polymerase chain reaction (RQ-PCR) 法で測定することにより、cell-free ウイルスの感染性を定量したところ、APOBEC3G によって HTLV-1 の感染性が抑制された。APOBEC3G の不活性型変異体を用いた検討でも同様の結果が得られた。第3に、標的細胞に組み込まれたプロウイルス DNA の塩基配列を調べたが、G から A への hypermutation は認められなかった。第4に、MT-2細胞へレトロウイルスベクターを用いて HIV-1 Vif を導入したところ、ウイルス粒子中の endogenous な APOB3C3G の取り込みが減少し、ウイルスの感染性が増加した。以上4点より、本分子が HTLV-1 ウイルス粒子に取り込まれ、抗 HTLV-1 作用を示すこと、しかしそのメカニズムは HIV-1 に対する場合とは異なり、シチジン脱アミノ化酵素活性以外によるものであることが明らかになった。これらの結果は、HTLV-1 ウイルス粒子の感染性が非常に低いこと及び自然界における HTLV-1 の遺伝子変異が少ないという事実を、本分子により説明できる可能性を示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

抗 HIV-1 宿主因子として同定された APOBEC3G (A3G) は、マウスレトロウイルスや B 型肝炎ウイルス等に対しても抗ウイルス活性を有する事が報告され、自然免疫としての免疫学的重要性が明らかとなった。本研究では成人 T 細胞性白血病ウイルス (HTLV-1) に対する A3G による抗ウイルス活性を詳細に検討している。

まず A3G が HTLV-1 ウイルス内に取り込まれる事を Western blotting 法で示し、HTLV-1 の感染性を阻害する事を Real-time PCR 法で示した。また、取込みと抗 HTLV-1 作用は、HIV-1 における抗 A3G 因子である Vif により阻害され、更に感染性が抑制された HTLV-1 ゲノムに遺伝子変異が導入されず、酵素活性を失活した変異体も抗 HTLV-1 活性

を有する事より、A3G のシチジン脱アミノ酸酵素活性が抗 HTLV-1 作用には必要とされない事が示された。以上の事実より、A3G は抗 HTLV-1 活性を有するが、その機序は従来 HIV-1 に関して報告されたものと異なる可能性がある事が明らかとなった。この結果は A3G が広範な抗ウイルス活性を有する事、作用機序はウイルスにより異なる事、更には HTLV-1 の持つ特徴的な感染性の一因としての A3G の関与を示唆する。

本研究は、A3G による抗レトロウイルス感染性制御の機序解明に寄与し、自然免疫機構の新しい側面を明らかにしたことで意義がある。したがって、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、本学位申請者は平成18年2月8日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。