

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	鈴木 康嗣
論文題目	細胞性キナーゼによるレトロウイルスインテグレーション機能の制御に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>レトロウイルスは標的細胞内に侵入後、ゲノムRNAから逆転写反応により合成したウイルスDNAを染色体DNAに組み込むことで感染を成立させる。この組み込み反応はインテグレーション (integration) とよばれ、ウイルス由来のインテグラーゼ (integrase) によって触媒される。感染細胞内においてインテグラーゼは、ウイルスDNAや様々なウイルス性ならびに細胞性タンパクと高分子複合体 (preintegration complex: PIC) を形成し、その機能を発揮する。これまでにPICを構成する細胞性タンパクのひとつとして、barrier-to-autointegration factor (BAF) が報告されている。BAFはそのDNA結合活性によりPIC内のウイルスDNAに直接会合し、ウイルスDNA自身への自滅的インテグレーション (autointegration) を抑制するとともに、宿主DNAへのインテグレーション反応を促進することが知られている。一方、本来BAFは核内において染色体構造の維持に寄与しているが、最近、BAFをリン酸化するキナーゼとして vaccinia-related kinase (VRK) が同定され、そのリン酸化によってBAFのDNA結合活性は失われることが明らかとなった。そこで、PIC内のBAFもVRKによるリン酸化によりウイルスDNAから解離し、結果的にPICのインテグレーション活性が阻害されるとの仮説を立て、その可能性を検討した。</p> <p>本研究では、モロニーマウス白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus: MoMLV) 感染細胞よりPICを抽出し、組換え体VRK1タンパクを <i>in vitro</i> で作用させたところ、PICからのBAFの解離が実際に観察された。さらに、VRK1処理したPICは標的DNAへのインテグレーション活性が大きく阻害され、同時にautointegrationが誘導されることが示された。哺乳類細胞では3種類のVRKファミリータンパクが同定されているが、VRK1に加え、VRK2もPICの機能阻害を引き起こした。</p> <p>これらの結果は、レトロウイルスのインテグレーションを機能的に制御する細胞性キナーゼの存在を示すものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

HIVに代表されるレトロウイルス感染における最も大きな特徴は、そのRNAゲノムから合成された二本鎖DNAが宿主細胞のクロマチンに組み込まれること（インテグレーション）である。この反応はいわばウイルスゲノムと宿主ゲノムとの同化過程であり、一度レトロウイルスDNAがインテグレーションされてしまうと、宿主体内からウイルスゲノムを取り除くことが理論的に不可能であることを意味している。よって、特にエイズなどのHIV感染症においては、インテグレーションに至る過程を効率よく阻害する治療法の確立が望まれている。

これまでに、ウイルス感染細胞におけるインテグレーションはPICとよばれる高分子複合体がその実行ユニットであることが証明されている。申請者はPIC機能に必須の細胞性構成因子であるBAFに着目し、BAFの機能不全を引き起こすことによってPICインテグレーション活性を制御できるのではないかとの考えのもと、マウス白血病ウイルス（MLV）をレトロウイルスのモデルとして用い研究をおこなった。BAFのリン酸化修飾を触媒する細胞性キナーゼとしてVRKがすでに報告されているが、*in vitro*実験により、VRKがリン酸化を介してBAFのDNA結合活性を低下させ、PIC内のウイルスDNAからの解離を引き起こすことを見出した。そして、VRKによるBAFの解離は、結果的にPICのインテグレーション活性を強く阻害した。また、3種類が知られているVRKファミリータンパクのうち、VRK1とVRK2がPICに対する抑制活性をもつことも示された。

本研究の結果は、PIC構成因子のリン酸化修飾がレトロウイルスのインテグレーション反応を阻害することを明らかにした最初の知見である。VRKのようなウイルス抑制性キナーゼの作用機序を解明することは、従来の化学療法の効果を高め、さらに宿主個体に影響の少ない新規治療法の開発という意味において極めて重要である。また、レトロウイルスの複製を正、もしくは負に制御する細胞性因子を同定することは、細胞内で繰り広げられるウイルスと宿主のクロストークを分子レベルで解明することにもつながり、他のウイルス感染症への発展も期待される。

以上より、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成24年1月30日論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日