

京都大学	博士（医学）	氏 名	渡 部 匡 史
論文題目	The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDIB/D4GDI limits HIV type1 replication (血球細胞特異的 Rho GTPase 抑制因子 ARHGDIB/D4GDI による HIV-1 複製抑制機構の解析)		
(論文内容の要旨)			
HIV-1 は、AIDS の原因ウイルスである。近年、抗 HIV 薬の多剤併用療法の進歩によりその発症は抑えられるようになった。しかしながら、時に抗 HIV 薬耐性ウイルスの出現があり、作用機序の異なる抗 HIV 薬の開発は、さらに強力な AIDS 治療法の確立にとって、きわめて重要である。 これまでの抗 HIV 薬はウイルス分子をその標的としてきたが、細胞性因子を標的とした新薬が開発され、優れた治療実績を上げている。この事実は、宿主-ウイルス間の相互作用の分子的理解が、次世代の抗 HIV 薬の開発にとって不可欠であることを示している。ところで、APOBEC3G のように血球の細胞性因子として抑制的な作用を有する分子に注目が集まっている。そこで、T 細胞の細胞破壊を導く HIV-1 の複製に対して抵抗性を賦与する細胞性因子同定法として T 細胞由来 cDNA ライブラリを T 細胞に導入発現させる遺伝子スクリーニング系を確立し、抗 HIV 分子の探索実験を行った。その結果、Rho GTPase 抑制因子である ARHGDIB 過剰発現 T 細胞では、HIV-1 の増殖複製、特にウイルス侵入効率が顕著に抑制されることを見出した。 Rho GTPase は、その GTP 結合活性型と GDP 結合不活性型間で、相互分子変換サイクルを形成し、細胞内シグナル伝達機構の分子スイッチとして機能している。一方、Rho Guanine nucleotide dissociation inhibitor (Rho GDI)は、GDP 結合型 Rho GTPase に会合し、その安定化により RhoGTPase 活性を負に制御する。 本論文では GDI ファミリーの中でも血球細胞に大量に発現している ARHGDIB/ D4GDI が HIV-1 複製抑制因子であることを見出し、その作用機序の解析実験をおこなった。まず、種々の CD4 陽性 T 細胞に ARHGDIB を過剰発現させた細胞株を樹立し、その細胞における HIV-1 複製が顕著に抑制されることを確認した。次に、その過剰発現細胞では、主要な Rho GTPase のなかで、Cdc42 以外の RhoA ならびに Rac1 の GTP 結合活性が、そして、これらの Rho GTPase 制御下にある細胞骨格分子であるアクチンの重合化能が明らかに減弱化していた。そして、HIV-1 エンベロープをウシ水疱性口内炎ウイルスの VSV-G と置換する感染実験により、ARHGDIB による HIV-1 の感染抑制作用は、HIV-1 エンベロープが介在した細胞侵入時のみであり、一方、その後のウイルス複製過程には差異はなかった。これらの結果は、HIV-1 エンベロープのウイルス受容体結合後の膜融合過程において、Rac1 は HIV-1 侵入効率を促進する作用を有するという HeLa 細胞を使った既報の実験結果と一致する。 本研究から、ARHGDIB は RhoA ならびに Rac1 の活性化の同時阻害により、内在性の HIV-1 複製抑制因子として機能していると考えられる。ARHGDIB はリンパ球に恒常的に発現しているので、HIV-1 は ARHGDIB の作用のある時点で逃れて細胞内に侵入することが推測され、この分子の機能強化により抗 HIV 作用が増強されることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨) HIV-1と宿主間の相互作用の解明は、ウイルス複製の分子的理解に限らず、新たな抗HIV薬の開発にとっても重要である。そこでT細胞へのcDNAライブラリ導入スクリーニング系により抗HIV分子の探索実験を行った。その結果、Rho GTPase抑制因子であるARHGDIB/D4GDI過剰発現T細胞では、HIV-1の増殖複製が顕著に抑制されることを見出した。ARHGDIBは、GDP結合不活性型Rho GTPaseに会合し、GTP結合活性型Rho GTPaseへの転換を負に制御する分子である。まず、ARHGDIB過剰発現T細胞では、主要なRho GTPaseのなかでRhoAならびにRac1のGTP結合活性が、そして、これらの分子の制御下にある細胞骨格分子アクチンの重合化能が明らかに減弱化していた。また、シングルラウンド感染実験におけるHIV-1エンベロープ蛋白質とVSV-G蛋白質との比較実験により、この感染抑制作用は、HIV-1エンベロープが介在した細胞侵入時のみに見られた。これらの結果から、ARHGDIBはRhoAならびにRac1の活性化の同時阻害により、内在性のHIV-1複製抑制因子として機能していると考えられる。 以上の研究は、HIV-1侵入過程におけるRho GTPase制御因子の抑制的関与を明らかにし、ウイルス複製機序の解明に寄与するところが多い。 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24年2月23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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			