

論文内容要旨

総合的題目

Divergence and evolution of primate lentiviruses: phylogenetic analyses based on accessory proteins Vpx/Vpr

(靈長類レンチウイルスの分岐・進化: アクセサリー蛋白質 Vpx/Vpr に基づく系統樹解析)

著者

Yosuke Sakai, Arika Miyake, Naoya Doi, Hikari Sasada, Yasuyuki Miyazaki, Akio Adachi, Masako Nomaguchi

第1編：平成28年8月3日発行

Frontiers in Microbiology 第7巻に article 1211 として発表済

第2編：平成28年10月18日発行

Frontiers in Microbiology 第7巻に article 1655 として発表済

内容要旨

現在、非常に多数のヒト免疫不全ウイルス (HIV-1 及び HIV-2) とサル免疫不全ウイルス (SIV) が靈長類レンチウイルスとして分離・同定されている。HIV/SIV の共通の特性はその種特異的複製能と持続感染能である。これらの特性を担うウイルス蛋白質として近年注目を集めているのがアクセサリー蛋白質である。アクセサリー蛋白質のなかでも、Vpx とその構造ホモログである Vpr については研究が遅れており、個体内機能は全く報告されていない。本研究では、Vpx/Vpr に焦点を当て、HIV/SIV の多様性との関連で分子遺伝学的及び系統学的解析を行った。

ほとんど全ての Vpx は、その C 末端領域に特徴的なプロリン連續配列 (poly-proline motif (PPM)) を持つ。一部のウイルス種では Vpr にも PPM が存在する。申請者らは以前、HIV-2 Vpx の PPM 変異が自然宿主細胞や特定の細胞株においてウイルス増殖能を顕著に低下させること、PPM が HIV-2 Vpx の効率的翻訳に重要な領域であること、また、HIV-2 と SIVmac Vpx の細胞内発現レベルが大きく異なること等を観察していた。そこで、本研究ではまず、各種 HIV/SIV を対象に Vpx/Vpr の発現特性の全体像を明らかにした。Vpx/Vpr の野生株および PPM 欠損体の発現ベクターを作製し、細胞内の野生株蛋白質発現レベルとその PPM 依存性をトランスフェクション/ウェスタンブロット法で比較解析した。Vpx/Vpr の発現レベルはウイルス種間で極めて多様であったが、Gag 系統樹上近縁なウイルスグループはおおむね同様の発現特性（基礎発現レベル及びその発現の PPM 依存性）を示した。

次に、抗ウイルス宿主因子 SAMHD1 の分解能の有無により HIV/SIV を分類し、

様式(8)

そのウイルス由来の Vpx/Vpr と逆転写酵素 (RT) とに着目した系統学的解析を行った。Vpx と一部の Vpr は SAMHD1 を分解し、これの持つ抗ウイルス作用に拮抗する。また、SAMHD1 分解能を持たない HIV-1 RT が分解能を持つ HIV-2/SIV の RT と比べ酵素活性が高いことが報告されている。Vpx/Vpr と RT のアミノ酸配列に基づく系統樹を作製した結果、両系統樹は極めて類似したクラスターパターンを示した。各ウイルス種で報告されている SAMHD1 分解能及び RT 活性を考慮して両系統樹を比較したところ、RT 活性が高い HIV-1 と RT 活性が低い HIV-2/SIV はそれぞれ SAMHD1 分解能を持たないウイルスと持つウイルスのクラスターとに明確に分かれた。これらの結果から、Vpx/Vpr と RT の間に系統的な作用連関が存在することが示唆された。

以上、その発現特性の解析結果及び RT との活性連関の検証結果から、Vpx/Vpr が各種靈長類レンチウイルスの分岐・進化に寄与している可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

| | | | |
|------|-------------------------------|----|------|
| 報告番号 | 甲医第 1321 号 | 氏名 | 酒井遙介 |
| 審査委員 | 主査 安友康二 副査 福井義浩 副査 西岡安彦 | | |

題目 Divergence and evolution of primate lentiviruses:
phylogenetic analyses based on accessory proteins Vpx/Vpr

(靈長類レンチウイルスの分岐・進化：アクセサリー蛋白質Vpx/Vprに基づく系統樹解析)

著者 Yosuke Sakai, Arika Miyake, Naoya Doi, Hikari Sasada, Yasuyuki Miyazaki, Akio Adachi, Masako Nomaguchi

第1編：平成28年8月3日発行

Frontiers in Microbiology 第7巻に article 1211 として発表済

第2編：平成28年10月18日発行

Frontiers in Microbiology 第7巻に article 1655 として発表済
(主任教授 野間口雅子)

要旨 ヒト免疫不全ウイルス(HIV)や近縁のサル免疫不全ウイルス(SIV)には、非常に多くのウイルス種が存在し、HIVはある種のSIVがヒトでの増殖に適応・進化し出現したとされている。HIV/SIVの共通の特性は、靈長類の種特異的に感染・増殖し持続感染状態に移行することであるが、この種特異的増殖にはウイルスのアクセサリー蛋白質が関与するとされている。申請者らは、アクセサリー蛋白質のなかでも、最も研究が遅れているVpxとその構造ホモログであるVprに着目し、ウイルスの多様性との関連や進化過程における役割について検討した。

ほとんど全てのVpxとある種のVprは、そのC末端領域に特徴

的なプロリン連続配列 (PPM) を持つ。申請者らは以前、PPM 変異が HIV-2 Vpx の蛋白質発現レベルを低下させ、標的細胞でのウイルス複製能を減じること、また、HIV-2 と SIVmac の Vpx の細胞内発現レベルが大きく異なること等を報告していた。そこで、本研究ではまず、各種 HIV/SIV 由来の Vpx/Vpr 蛋白質発現レベルとその発現の PPM 依存性を調べた。解析の結果、Vpx/Vpr はウイルス種固有の蛋白質発現レベルと PPM 依存性を示すことが分かった。また、このような発現特性が、系統樹上近縁なウイルスグループでおおむね保存されていることも明らかにした。

近年、ウイルスの逆転写過程を阻害する宿主因子として sterile alpha motif and HD-domain containing protein 1 (SAMHD1) が報告された。これに対し、一部の Vpx/Vpr は SAMHD1 を分解し不活化することが示されている。そこで、申請者らは、各ウイルス種で報告されている Vpx/Vpr の SAMHD1 分解能及び逆転写酵素 (RT) 活性を考慮して系統樹解析を行った。その結果、RT 活性が高いウイルス群と RT 活性が低いウイルス群は、それぞれ SAMHD1 分解能を持たないウイルス群と持つウイルス群のクラスターに分かれ、Vpx/Vpr と逆転写酵素との間に何らかの進化上の関連性があることが示唆された。

以上より、Vpx や Vpr が靈長類レンチウイルスの分岐・進化に寄与している可能性が示された。本研究は、HIV/SIV の多様性や進化におけるアクセサリー蛋白質の役割について重要な示唆を与えており、そのウイルス学的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。