

論文審査の結果の要旨

氏名 松田 有加

HIV-1 が AIDS の原因ウイルスとして発見されて以降、様々なウイルスの複製機構を標的とした抗 HIV 薬が開発されており、これらを組み合わせた多剤併用療法によってウイルスの産生と感染を効果的に抑制することが可能である。しかし HIV は reservoir と呼ばれる感染細胞内に保持され、抗 HIV 薬療法下でも長期間体内に残存する。感染者は latent reservoir からのウイルス再活性化を防ぐために、一生涯に渡り抗 HIV 薬を服用しなければならず、reservoir size の縮小が HIV 感染症の新たな課題である。ウイルス遺伝子はプロウイルスの 5' 末端側の LTR 配列をプロモーター/エンハンサーとして発現し、さらに宿主のエピジェネティック制御の影響を受けて転写レベルが規定されるが、この潜伏感染細胞では複製可能なプロウイルスが転写レベルで抑制されている。体内の潜伏感染細胞を減少させるためには、その成立メカニズムの理解が重要であるが、これまで十分明らかにされていない。この主な原因としては①潜伏感染細胞には特異的なマーカーがないこと、②潜伏感染の成立の頻度は非常に低いこと、の 2 点が挙げられる。従って、ウイルス遺伝子発現が抑制された集団を特定し、詳細に解析することが急務である。

論文提出者は、これらの問題を考慮して独自のレポーター導入系 Dual-color-reporter を作製し、HIV の潜伏化成立のメカニズムの解明とその過程における宿主エピジェネティック制御の役割を検証することを目的として研究を行った。

Dual-color reporter を用いた感染初期の LTR の活性の解析から、感染 3 日目において LTR の活性が抑制された感染細胞集団と LTR の活性が高い感染細胞集団が存在することが明らかとなった。この集団での LTR 活性抑制のメカニズムを解析したところ、エピジェネティック制御依存的な転写抑制が存在することがわかった。転写制御に関わる種々のヒストン修飾のレベルを比較した結果、特に転写抑制的な H3K27me3 修飾が Venus(-)集団中の LTR のプロモーター領域で蓄積していることが明らかとなった。そこで H3K27me3 制御因子である PRC2 の感染初期の抑制への関与について PRC2 阻害剤を用いて検証した。これらの結果から感染初期の抑制に PRC2 が寄与する事が示唆された。さらに感染初期における LTR 活性の抑制に対する PRC2 の役割を解析するために、PRC2 の主要な構成因子の EZH2 及び SUZ12 のノックダウンを行った。その結果、コントロール細胞と比較して感染初期の LTR の活性の強い集団の割合に増加が認められた。この現象はより wild type の HIV に近い single round HIV を用いても観察された。以上の結果から細胞内の PRC2 の活性が感染初期のウイルス遺伝子発現を抑制することがわかった。

一方、感染初期に LTR 活性が強かった集団を長期培養し、LTR 活性の経時変化を観察したところ、徐々に抑制されることがわかった。この経時的抑制におけるエピジェネティック

ク制御のレベル変化を解析した結果、H3K27me3 及び H3K9me3 レベルの増加が LTR 上に見られた。またエピジェネティック阻害剤の処理によって LTR 活性の抑制が阻害された。この結果から LTR 活性の経時的な抑制にも転写抑制的なヒストン修飾が関与することが示唆された。

興味深いことに、異なる経路で成立した潜伏感染細胞集団間には LTR 上のヒストン修飾レベルの違いがあることがわかった。この集団の性質の違いを検討するために、種々の LTR 活性化刺激への応答性を比較したところ、感染初期に LTR の活性が強かった集団ではこれらの刺激に対する応答性が高いことがわかった。この結果から、潜伏感染細胞集団中には再活性化刺激への応答性に関する heterogeneity が存在することが示唆された。

本研究で論文提出者は、独自のレポーターを作製し、HIV-1 LTR 活性の抑制メカニズムが感染初期の抑制と経時的な抑制であることを示した。さらに、これらの抑制過程における様々な宿主のエピジェネティック制御の役割を明らかにした。また異なる経路で成立した潜伏感染細胞は再活性化刺激への応答性が異なり、潜伏感染細胞中に heterogeneity が存在することが示唆された。この結果は、これまで解析が困難であった潜伏感染細胞成立の理解に貢献するとともに、潜伏感染細胞を標的とした新たな治療法の開発にも貢献するものと期待される。

本委員会は、論文提出者に対し、平成 26 年 1 月 22 日学位論文の内容及び関連事項について、口頭試験を行った。

その結果、論文提出者は、博士（生命科学）の学位を受けるにふさわしい十分な学識をもつものと認め、審査委員全員により合格と判定した。

以上 1994 文字