

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)甲第277号	氏名	吉居(神山)陽香
学位審査委員	主査 副査 副査 副査	岩尾 正倫 石橋 郁人 畠山 智充 久保 嘉直	
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>吉居(神山)陽香氏は、2009年4月に長崎大学大学院生産科学研究科博士後期課程に入学し、現在に至っている。同氏は生産科学研究科に入学後、物質科学を専攻して所定の単位を修得するとともに、レトロウィルス感染の初期過程を抑制する因子に関する研究に従事し、その結果を2011年12月に主論文「Investigation of Inhibitory Factors for Entry Step of Human Retrivirus Infections」として完成させ、参考論文として学位論文の印刷公表論文2編(うち審査付き論文2編)、印刷公表予定論文1編(投稿準備中)、学位論文の基礎となる論文6編(うち審査付き論文6編)を付して、博士(学術)の学位を申請した。長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、2011年12月21日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2012年2月15日の生産科学研究科教授会に報告した。</p> <p>提出論文の内容は次のとおりである。</p> <p>1. Biological evaluation of lamellarin α 20-sulfate analogues as potential anti-HIV-1 agents</p> <p>ラメラリンは特異な多環性骨格を持つ海洋アルカロイドであり、現在までに骨格上の置換様式が異なる40以上のラメラリン類似体が軟体動物、被囊動物、海綿などから単離されている。ラメラリンは抗がん活性等の有用な生物活性を示す。近年、lamellarin α 20-sulfate が human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) インテグラーゼの阻害活性を持ち、HIV-1感染を抑制することが報告された。しかしながら上記の結果は recombinant ウイルスタンパク質を用いた in vitro 実験から得られたものであり、実際に細胞内で lamellarin α 20-sulfate が同様の活性を示すかどうかは不明であった。本研究では lamellarin sulfate の構造活性相関と HIV-1 感染抑制メカニズムを明らかにするために、6種類の合成 lamellarin sulfate が HIV-1 ベクター感染を抑制するかどうかを検証した。その結果、lamellarin 骨格と硫酸基が抗 HIV-1 活性に必須であり、硫酸基の位置と数は重要ではないことがわかった。また、confocal laser scanning microscope を利用した実験より、 lamellarin α 20-sulfate を含む全ての lamellarin sulfate は細胞内には取り込まれないことがわかった。一方、lamellarin sulfate の HIV-1 ベクタ</p>			

一感染抑制活性と HIV-1 Env mediated cell-cell fusion 抑制活性との間に良好な相関が認められたことから、lamellarin sulfate の抗 HIV-1 活性発現の作用機序はインテグラーゼ阻害ではなく、HIV-1 の感染初期過程であるウイルス侵入阻害であることが示唆された。

2. Tetherin suppresses de novo productive infection during cell-to-cell infection of HIV-1

テザリンは宿主が持つ抗ウイルスタンパク質の 1 種である。テザリンはウイルス産生細胞膜上に HIV-1 ウイルスをつなぎとめることによりウイルス放出を阻止し cell-free 感染を抑制する。しかしながらテザリンが HIV-1 の生体内での主要な感染経路と考えられている cell-to-cell 感染を抑制するかという点に関して相反する報告が多数あり、明確にされていなかった。本研究ではウイルス産生細胞でのテザリン発現が HIV-1 cell-to-cell 感染を抑制するかどうか 2 つの実験系を用いて検証した。Flow cytometry を用いた実験系では HIV-1 Env による cell-cell fusion と de novo の HIV-1 感染を区別することができないことがわかった。一方、感染細胞でのみ luciferase を発現する新規の実験系では感染細胞のみを正確に検出でき、テザリンは HIV-1 cell-free 感染と同様に cell-to-cell 感染も抑制することがわかった。

3. Endosome acidification and cathepsin protease inhibitors suppress XMRV infection

マウス白血病ウイルス (MLV) はその宿主域から 4 つのグループ (Ecotropic, Amphotropic, Polytropic, Xenotropic) に分けられ、Ampho-, Poly-, Xeno- はヒトを含む多くの哺乳類に感染することができる。また近年、Xeno-MLV と相同性が高い新規のヒトレトロウイルスである xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) が同定され、ヒトでの前立腺癌や慢性疲労症候群との関連性が疑われている。Eco-MLV 感染にはエンドソーム内の酸性化とタンパク質分解酵素であるカテプシンが必須であることが知られておりこれらの阻害剤は Eco-MLV 感染を抑制する。しかし Poly-, Xeno- MLV, XMRV 感染においては明らかにされていなかった。本研究では Poly-, Xeno-, XMRV- MLV 感染はエンドソーム内の酸性化およびカテプシンの活性化を必要とするのかどうかを検証した。Eco-, Ampho-MLV やエボラウイルス感染と同様に、Poly-, Xeno-, XMRV-MLV 感染も酸性化エンドソーム内で起こり、カテプシンを必要とすることがわかった。エンドサイトーシスを抑制することにより全ての MLV 感染は抑制されたことから、エンドソーム酸性化、カテプシン、およびエンドサイトーシス阻害剤は新規のヒトレトロウイルス感染抑制剤となりうることが示唆された。

以上のように本論文は、ヒトレトロウイルス感染の初期過程を抑制する因子を多面的に探索し、それらの活性発現機構を明らかにしたものである。学位審査委員会は、これらの成果は創薬化学、ウイルス学、細胞生物学の各分野の進歩発展に貢献する所が大であり、博士 (学術) の学位に値するものと判断した。