



Title	ヒト免疫不全ウイルス持続感染MT-4細胞から得られたクローン細胞株の多様性について
Author(s)	楠田, 裕子
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35977
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	楠 田 裕 子
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8108 号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	医学研究科社会系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ヒト免疫不全ウイルス持続感染MT-4細胞から得られたクローン 細胞株の多様性について
論文審査委員	(主査) 教授 四方 一郎 (副査) 教授 北村 旦 教授 加藤 四郎

論文内容の要旨

〔目 的〕

ヒト後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因としてヒトレトロウイルスが分離され、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)と命名された。HIVは血清型で1型(HIV1)と2型(HIV2)にわけられるが、欧米の患者より分離されるのは殆どHIV1であり、HIV1の研究が広範に行われている。HIVは、培養OKT4陽性T細胞に選択的に感染して増殖するが、細胞の種類により、感染性HIV粒子を産生しつつ細胞も分裂増殖し続ける場合と、HIVの増殖に伴い感染細胞が死滅する場合が知られている。最近、本学微生物研究所の生田らにより、後者の系であるHIV感染MT-4細胞においても、少数の生残細胞があり、ウイルス感染の約2週間後には増殖しはじめ、継代培養可能な細胞になることが見出された。これらの細胞は、HIV抗原を100%発現しているが、回収可能なウイルスの感染価は低く、電顕学的、生化学的に不完全粒子を多く産生していることなどが報告された。本研究の目的は、これらの生残細胞から、多数のクローン細胞株を分離し、各種HIV抗原の発現能、産生粒子の構成蛋白、電顕学的に認められる粒子の形態などを明らかにすることにする。

〔方 法〕

1. ウイルスと細胞：HIV1は、HTLV-III BおよびLAV株を用いた。細胞は、ヒト急性リンパ性白血病由来株であるMOLT-4、TALL-1細胞株およびHTLV-Iートランスフォーム株であるMT-4細胞株を用いた。HIV材料は、これらの細胞の持続感染株であるMOLT-4/H
TLV-III BおよびTALL-1/LAVの培養液より得た。
2. 抗HIV抗体：AIDS患者血清およびMOLT-4/H
TLV-III Bの培養液から精製され

るHTLV-I IIBを免疫原として得られたHIV *gag* P24およびP17および逆転写酵素 (RT) に対するマウス単クローン抗体を用いた。抗HIV抗体以外にも抗HTLV-I血清として、ヒト成人T細胞白血病 (ATL) 患者血清を用いた。

また、市販のOKT4, OKT8およびインターロイキン2レセプター (IL-2R) に対するマウス単クローン抗体も用いた。

3. 細胞クローニング：限外希釈法および軟寒天培養法によりクローン細胞株を分離した。

4. 生化学的解析：HIV持続感染細胞を $[^{35}\text{S}]$ システインで標識後、各種抗体による免疫沈澱を行い、1次元、2次元電気泳動により解析した。

〔成 績〕

1. MT-4にHIVを感染することにより3種類の持続感染細胞が得られた。即ち、HTLV-I IIBにより2回、LAVにより1回行い、これらをM4HB1, M4HB2, およびM4LB1と名付けた。これらの細胞群から各々44株, 5株および15株のクローン細胞を分離した。

2. HIV抗原, HTLV-I抗原, 細胞表面マーカー抗原などの発現, HIVのRT活性, ウイルスの感染価, 巨細胞形成能 (GCF) などを調べた。その結果, いずれのクローン細胞もHTLV-I抗原は陽性, T4, T8のマーカー抗原は陰性, IL-2Rは陽性であった。しかし, HIVの*gag*抗原, RT活性, HIVの感染価において差異が認められ, 現在までに少なくとも8型に分類できた。

即ち, 1) *env*⁺, *gag*⁺, RT活性⁺, GCF⁺, HIV感染価⁺, 2) *env*⁺, *gag*⁺, RT活性⁺, GCF⁻, HIV感染価⁺, 3) *env*⁺, *gag*⁺, RT活性⁺, GCF⁺, HIV感染価⁻, 4) *env*⁺, *gag*⁺, RT活性⁻, GCF⁺, HIV感染価⁻, 5) *env*⁺, *gag*⁺, RT活性⁻, GCF⁻, HIV感染価⁻, 6) *env*⁺, *gag*⁻, RT活性⁺, GCF⁺, HIV感染価⁻, 7) *env*⁺, *gag*⁻, RT活性⁻, GCF⁺, HIV感染価⁻, 8) *env*⁺, *gag*⁻, RT活性⁻, GCF⁻, HIV感染価⁻の八種類である。これらのクローン細胞から放出されるウイルス粒子は, 1) および2) 型を除いて全て非感染性であり, 電顕学的には大きく2種類に分けられた。1つは, 従来未熟ウイルスと考えられているドーナツ型粒子, 他の1つは, 粒子の中に明確なコア構造の認められない空粒子である。これらの2つの型のウイルス粒子は, 主に*env*蛋白から構成され, *gag*蛋白やRT蛋白は同定できなかった。

〔総 括〕

HIV感染MT-4細胞集団には少数の生残細胞があるが, これらの細胞より多数のクローン細胞を分離し, これらをHIV構成蛋白, 産生粒子の性状などから8型に型別した。このうち6つの型は何れもHIV不完全粒子を産生しており, その1つの型は, 主として*env*蛋白のみから構成され, *gag*蛋白やRT活性を持たない空粒子産生細胞株であった。

論文の審査結果の要旨

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）は、一般にヒト白血病由来培養株細胞に感染した場合、感染性HIV粒子を産生し続ける持続感染状態となることが知られている。然しHIVが、Tリンパ球向性ウイルス1型によってトランスフォームした細胞株MT-4細胞に感染した場合には、ウイルスの増殖に伴ない著しい細胞病変効果を示して細胞は死滅する。最近HIV感染MT-4細胞の中に、少数の生残細胞があり、これらの細胞はやがてHIV抗原の発現を示しつつ増殖することが示された。本研究は生残細胞群より64コのクローン細胞を分離し、これらのクローン細胞がHIV抗原構成たん白、産生粒子の性状などから8つの型に分離されることを見出したものである。この中の6つの型は、感染性のない多様な不完全粒子産生細胞株であり、特に8型は、外被抗原は認められるが内部の*gag*抗原を欠く不完全粒子の産生細胞株であった。以上の研究はHIVのウィルス学に重要な知見を加えたもので博士論文として価値あるものと認める。