

Title	Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) DNA in peripheral blood of exanthem subitum patients by polymerase chain reaction DNA amplification
Author(s)	近藤, 一博
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37099
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)	こ 近	ど 藤	か 一	ひろ 博
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 0 8 7		号
学位授与の日付	平 成	2 年	3 月	2 4 日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則番5条第1項該当			
学位論文題目	Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) DNA in peripheral blood of exanthem subitum patients by polymerase chain reaction DNA amplification (ヒトヘルペスウイルス-6 (HHV-6) のマクロファージ系細胞での潜伏感染に関する研究)			
論文審査委員	(主査)			
	教授	高橋	理明	
	(副査)			
	教授	羽倉	明	教授 上田 重晴

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

近年、第6番目のヒトヘルペスウイルス-6 (HHV-6: human herpesvirus-6) が発見され、突発性発疹の原因ウイルスであることが判明した。しかし他のヒトヘルペスウイルスとの共通の性質である潜伏感染性については、AIDS患者、臓器移植患者からのウイルス分離の報告により潜伏感染が示唆されるものの、その様式、標的細胞等は全く不明であった。そこでHHV-6の潜伏感染をしらべる目的で、培養細胞系及び生体内細胞の両面から検討を行った。

〔 方法ならびに結果 〕

1. Polymerase Chain Reaction (PCR) 法の確立

突発性発疹患者よりのHHV-6 臨床分離株 (橋本株) をDNAクローニングし、一部塩基配列を決定することにより、HHV-6 ウイルスに特異的なPCR法を確立した。この方法によりHHV-6 感染による突発性発疹患者血中単核球から95%以上の確率でHHV-6 DNAが検出され、突発性発疹症の早期確定診断が容易となった。

2. 生体内におけるHHV-6の標的細胞及び潜伏感染

HHV-6 の標的細胞は、培養細胞では主にT細胞であり、突発性発疹患者からのウイルス分離も急性期のCD4陽性T細胞からに限られ、回復期患者からのウイルス分離は困難であることを我々は報告している。そこで突発性発疹の急性期及び発症後1.5カ月～2.5カ月の回復期、さらに健康成人の血球細胞に対しPCR法によるHHV-6 DNAの検出を試みた。この結果、突発性発疹急性期では末梢血球において、接着性細胞、非接着性細胞より検出されるHHV-6 DNAに量的な差が無いのに対し、

回復期ではHHV-6 DNAは主として接着性細胞に見出された。また健康成人では、末梢血球接着細胞から20例中5例で、HHV-6 DNAが見出された。これらの結果より、生体内において、HHV-6は急性感染では、T細胞、マクロファージの両方を標的細胞とするが、潜伏感染に際しては、マクロファージを標的細胞とする可能性が強く示唆された。

3. HHV-6の標的細胞及び潜伏感染細胞

マクロファージ系細胞における潜伏感染の成立を考え以下の実験を行った。正常成人より採取した末梢血単核球にHHV-6を感染させ、蛍光抗体法により抗原発現、Infectious center assay法により感染性ウイルスの成立、PCR法を用いることによりHHV-6 DNAの存在をしらべ、以下の結果を得た。末梢血単核球を1週間培養したものは、組織マクロファージと同等の分化段階にあると考えられるが、HHV-6はこの細胞で多量の抗原発現を示し、感染性ウイルスの成立も見出された。

また末梢血より採取した直後の血球では感染後5日まで抗原発現及び感染性ウイルスは検出されなかったが、感染ウイルス数に相当する数の細胞中にウイルスDNAが検出された。またこの細胞は感染後1週間でウイルス抗原及び感染性ウイルスが検出されるようになった。さらに一度感染の成立した細胞では感染成立後3週間経過すると抗原発現及び感染性ウイルスは観察されなくなるが、少なくとも10%の細胞中にウイルスDNAが見出され、このウイルスDNA陽性細胞の数は、5週間経過しても減少しなかった。これらの結果は、マクロファージもHHV-6の潜伏感染に重要な働きをもつことを示唆している。

〔総括〕

1. HHV-6に対するPCR法を確立し、この方法がHHV-6の早期確定診断に有効であることが判明した。
2. 生体内においてHHV-6の潜伏感染が成立していること、またその標的細胞がマクロファージである可能性が高いことを示した。
3. マクロファージもHHV-6の標的細胞であり、分化段階によって完全増殖系になるのみでなく潜伏感染状態の成立する可能性を示唆した。

マクロファージにおけるそのウイルスの潜伏感染状態という現象は、今後感染病理学のみならず免疫学的な発展も期待されると考えている。

論文の審査結果の要旨

本研究は、HHV-6の潜伏感染を解明する目的でHHV-6に対するpolymerase chain reaction (PCR)法を確立し、これを用いてマクロファージ系細胞がHHV-6の潜伏感染に重要な役割をもつことをin vivo, in vitroの両面から示したものである。

これまでHHV-6はT細胞系細胞を標的とするとされ、潜伏感染については全く不明であった。本研究では突発性発疹患者及び健常人の血球に対しPCR法を行い免疫成立後もマクロファージ系細胞に

HHV-6 DNAが検出されること、及びin vitroにおいてマクロファージ系細胞がHHV-6の完全増殖系、及び潜伏感染系となることを示した。マクロファージにおけるこのウイルスの潜伏感染状態という現象は感染病理学的及び免疫学的意義が大きく学位授与に価すると思われる。