The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	不完全なヒト免疫不全ウイルス　(HIV)　産生クローン細胞に対するHIV重感染
Author(s)	三宅, 司郎
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37863
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、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

【64】

氏　　名	三宅司郎（みやけしろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　10025　号
学位授与年月日	平成4年2月4日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	**不完全なヒト免疫不全ウイルス（HIV）産生クローン細胞に対するHIV重感染**
論文審査委員	（主査）教授　栗村　敬 （副査）教授　上田　重晴　　教授　中田　篤男

論文内容の要旨

〔目　的〕

HIV感染から後天性免疫不全症候群（AIDS）発症までには，平均9.8年もの無症候性キャリア（AC）期を要する。発症に至らせる要因は，ウイルス側と細胞側の要因に加えて，免疫学的な要因が複雑に関連していると思われる。このうちウイルス側の要因は，AC期とAIDS発症期とで分離されるウイルスの性状や分離率が異なること等から考えて，ウイルスの潜伏感染状態から増殖感染系への変化が，その1つと考えられる。そこで，ウイルスの潜伏感染状態を反映していると考えられる培養細胞系を，HTLV−Iでトランスフォームした MT−4細胞及び急性リンパ性白血病由来株であるMOLT−4細胞において確立し，この系におけるHIVの増殖感染系への変化を重感染実験において試みることを本研究の目的とした。

〔方法ならびに成績〕

1. 非感染性HIV粒子産生クローン細胞に対するHIV重感染の試み

MT−4細胞にHIVを感染させ，大部分が障害を受け死滅した後，僅かに生き残った細胞は，HIVに持続感染していた。そこで細胞クローニングを行ったところ，HIV表現型によりI〜VIII型に型別でき，この内約85%のクローン細胞（II〜VIII型）が，感染性HIV粒子を産生しなかった。これらのクローン細胞の代表株として，L−2，L−3，H−7細胞を用いた。これらの細胞に対してmultiplicity of infection（MOI）1でHIVの重感染を試み，4週間培養後，細胞培養液中の感染価を測定した。その結果重感染前に$<10^{0.5}$ $TCID_{50}$/mlだった感染価が，重感染後は$10^{2.5}$〜$10^{3.5}$

TCID$_{50}$/mlとすべてのクローン細胞で感染性HIVの産生細胞になっていた。一方，MOLT-4細胞にMOI1の感染価でHIVを感染させ，ただちに限界希釈法により細胞クローニングを行い，33のクローン細胞を得た。これらは，HIV表現型によりI～III型に型別できた。III型には，20クローンが含まれ，HIV抗原を発現しているが多核巨細胞形成能，逆転写酵素活性，感染性を認めなかった。そこで代表株としてIII型に属するc1-7細胞を用い，重感染を試みた。その結果，感染性HIVの産生細胞になっていた。

2. 重感染のための細胞レセプターの検索

L-2細胞を用いて，抗CD4モノクローナル抗体（OKT4及びanti-Leu-3A），可溶性CD4，合成CD4ペプチドによる重感染抑制効果を検討した。その結果OKT4は効果がなく，感染後8日目から重感染が成立した。anti-Leu-3Aと可溶性CD4は，未処理のものと比較して，4～6日重感染の成立が遅れた。一方合成CD4ペプチドは，用いたCD4（68-130）とCD4（66-92）共に，観察した20日間において重感染の成立を認めなかった。

3. 重感染の成立したL-2細胞の解析

L-2細胞と，重感染後約1か月培養後細胞クローニングして得たサブクローン（L-2-H1細胞）を用いて，以下の解析を行った。まず免疫沈降とSDS-PAGEにより，産生されるウイルス蛋白の差異を解析した。L-2細胞では，前駆蛋白であるp53を認めるが，成熟した*gag*蛋白であるp24とp18は，認められなかった。一方，L-2-H1細胞は，これらの成熟蛋白が認められた。またこれらの細胞内HIVDNAをサザンブロットにより解析した結果，L-2細胞は，細胞当たり1コピーのHIVゲノムが存在したのに対し，L-2-H1細胞では，このHIVゲノムに加えて重感染HIVに由来すると考えられるゲノムが細胞当たり1コピー認められた。さらに電子顕微鏡を用いて，これらの細胞の産生しているHIV粒子の形態学的差異を観察した。その結果，L-2細胞は，不完全なドーナツ様のHIV粒子を産生していたが，重感染後のL-2-HI細胞では，ドーナツ様の粒子と共に，中央にコア構造を持つHIV粒子も産生していた。

〔総　括〕

感染性HIV粒子を産生しない，HIV持続感染MT-4及びMOLT-4クローン細胞に対しHIV重感染を試みた結果，用いた全てのクローン細胞で，感染性HIV粒子を産生するようになった。この重感染に働くレセプターをL-2細胞をモデルに検索したところ，HIV初感染時に働くレセプターが，CD4分子の，イムノグロブリンV1ドメイン中に存在する第2の相補性決定領域に対応する領域であるのに対して，重感染時に働くレセプターは，第3の相補性決定領域に対応する領域であることが示唆された。生体内においてAC期の潜伏感染状態からAIDS期の増殖感染系へとHIVの性状が変化する現象の一部は，今回観察された重感染の結果生じる可能性を示唆している。

論文審査の結果の要旨

本論文はMT-4，MOLT-4両細胞を用い不完全ヒト免疫不全ウイルス（HIV）による持続感染系を樹立し，この細胞に対する感染性HIVの重感染の成立すること，さらにはこの重感染時のウイルスに対するレセプターは同じCD4分子上のV1ドメインにあっても第3の相補性決定領域が重要な役割をしている点が最初の感染と異なることを明らかにしたものである。HIV感染症の発症機作を今後明らかにする上で価値ある新しい知見を得たものと思われ学位に値するものと判断した。