



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

氏 名	三宅 司 郎
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 $<10^{0.5}$ TCID₅₀/ml だった感染価が、重感染後は $10^{2.5} \sim 10^{3.5}$

TCID₅₀/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 MOI 1 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 HIV DNA 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-H1 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。