

Title	Persistent infection with SIVmac chimeric virus having tat, rev, vpu, env and nef of HIV type 1 in macaque monkeys
Author(s)	五十嵐, 樹彦
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38988
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"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	五十嵐 樹彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11780 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Persistent infection with SIVmac chimeric virus having <i>tat</i> , <i>rev</i> , <i>vpu</i> , <i>env</i> and <i>nef</i> of HIV type 1 in macaque monkeys (HIV type 1 由来の <i>tat</i> , <i>rev</i> , <i>vpu</i> , <i>env</i> 及び <i>nef</i> を持つ SIVmac のマカク属サルにおける持続感染)
論文審査委員	(主査) 教授 栗村 敬 (副査) 教授 上田 重晴 教授 山西 弘一

論文内容の要旨

【目的】

エイズの主要な病原体である HIV-1 は宿主域が狭いため動物実験が困難な状況にある。一方、アカゲザル由来の SIVmac はアカゲザルに感染し、エイズ様症状を引き起こす。そこでこれらウイルスの遺伝子を組み合わせることで有効なエイズ動物モデル系を確立することを目的として種々のキメラウイルスを作成し、サル個体での感染性を検討した。

【方法ならびに成績】

以前作成したキメラウイルス NM-3 (HIV-1 由来の *tat*, *rev*, *vpu* および *env* と SIVmac 由来の *gag*, *pol*, *vif* および *vpx* を持つ) は、サル接種実験を行ったところ、ウイルスに対する抗体は誘導されたが、感染初期においてウイルス分離成績は悪く、感染効率はよくなかった (Sakuragi *et al.* 1992)。その後、ケスラーらによりアカゲザルにおける SIVmac 感染で、体内ウイルス量およびエイズの発症には *nef* が必須であるという報告がなされたので、感染効率の向上、さらに発症を期待して NM-3 で正常に翻訳されなかった *nef* を HIV-1 由来の *nef* として翻訳可能にした NM-3n を作成した。感染性 HIV-1 分子クローン pNL432 および病原性 SIVmac 分子クローン pMA239 の *vpr* および 3' LTR 上の制限酵素切断部位で両遺伝子を組換え、LTR, *gag*, *pol*, *vif* および *vpx* は SIVmac 由来、*tat*, *rev*, *vpu*, *env* および *nef* が HIV-1 由来のキメラウイルス pNM-3n を構築した。作成した NM-3n は親株の SIVmac および以前構築した NM-3 と同様にカニクイザル末梢血リンパ球でよく増殖したので、サル個体での感染性を検討した。2 頭のカニクイザルおよび 1 頭のアカゲザルに NM-3n を接種し、ウイルス分離、抗体の検索、分離ウイルスの蛋白および遺伝子解析、および分離ウイルスのサル接種実験を行った。カニクイザル接種実験では 1 頭から接種 37 および 63 週後に、アカゲザル接種実験では接種 6 週後より観察期間中ウイルスが分離された。分離ウイルスは接種材料と同様のキメラ構造、即ち、*gag*, *pol* を中心とする領域が SIVmac で、*env* を中心とする領域が HIV-1 である構造を保っていた。いずれのサルでも HIV-1 の *env* および SIVmac の *gag* に対する抗体が上昇し、観察期間中持続した (カニクイザル-88 週間、アカゲザル-36 週間)。また、カニクイザルでは接種した NM-3n および親株の HIV-1 を中和する中和抗体が誘導された。HIV-1 においてウイルス感染性中和に関する主要な抗原決定基は *env*V3 領域に存在していることから、カニクイザルから接種 37 週間後に分離されたウイルスの *env*V3 領域の遺伝子解析を行ったが、中和抗体からのエスケープを示唆するような、即ち中和エピトープの特定の部分に変異が集

中するようなことは観察されなかった。NM-3n 持続感染サルからの分離ウイルスの感染性を検討する目的で1頭のアカゲザルに接種したが、元のウイルスと比較して格段にウイルス分離成績が向上するようなことはなかった。現在までこれらキメラウイルス感染サルはエイズ様症状を示していない。

【総括】

HIV-1/SIVmac キメラウイルス NM-3n はマカク属のサルに長期持続感染した。NM-3n は感染サルに長期間にわたる抗体応答を誘導し、これらの抗体は NM-3n および HIV-1 を中和する活性を有していた。更に本実験後、感染サルは HIV-1 *env* に対するキラー T 細胞を誘導していることが確かめられた。これらの感染サルは観察期間中エイズに関連した症状を示すことがなく、期待していたほどに感染効率の良いものではなかったことから、より感染効率の良いキメラウイルスの作成が必要と考えられた。その後、本実験で用いた NM-3n では正常に翻訳されなかった *vpr* が SIVmac 感染におけるエイズ発症に必須である報告がなされたので、*vpr* を HIV-1 で、*nef* を SIVmac で翻訳可能にした新しいキメラウイルス NM-3rN を構築した。それをサルに接種したところ全頭でウイルス血症が見られたのでエイズの発症が期待される。本実験の NM-3n 感染サルに NM-3rN で攻撃接種したところ、感染防御効果が観察された。NM-3n がヒト末梢血リンパ球で増殖可能なこと、またこれらの実験成績からエイズの弱毒生ワクチン開発のベースとしての有効性が期待される。

論文審査の結果の要旨

従来よりヒトのエイズの動物モデルの開発は、治療・予防さらには基礎的研究にとって必須のものとされていた。エイズの原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルスは宿主域が狭く、そのためチンパンジーなど限られた霊長類にしかな感受性がみられなかった。そこで SCID-hu マウスなどを用いることが試みられている。本論文は、大きく考え方を換え、サル免疫不全ウイルスとヒト免疫不全ウイルスのキメラウイルスを作り、マカク属サルに持続感染させることに成功したものである。ヒト免疫不全ウイルスの *env* 遺伝子をもつこのキメラウイルスは、*env* 遺伝子産物が中和抗体、CTL の標的として重要なことより、エイズにおけるウイルスと免疫系の係り合いの解明に大きな手掛かりを与えるものと思われ、十分学位に値するものと判定した。