



Title	HIV-1持続感染細胞におけるウイルス産生の調節
Author(s)	大渡, 五月
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40033">https://hdl.handle.net/11094/40033</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	おお 渡 五 月 大 渡 五 月
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 0 0 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 3 月 25 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	HIV - 1 持続感染細胞におけるウイルス産生の調節
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 栗 村 敬 (副査) 教 授 山 西 弘 一 教 授 上 田 重 晴

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

AIDS は、発症するまで約10年にも及ぶ長期の潜伏期間があり、ウイルスが標的細胞の、CD 4<sup>+</sup>T リンパ球やマクロファージのゲノムの中に、プロウイルスという形で入り込み、ホストの免疫機構を逃れ、表面上は無症状のキャリアとなる。HIV 感染による、CD 4<sup>+</sup>T リンパ球の減少が AIDS の病態に深く関わっていることは分かっているが、もう一方の標的細胞である、マクロファージについては、感染初期のウイルス増殖に関係していると言われているが、ウイルスとマクロファージの相互作用などについては不明な点が多い。本研究においては、持続感染細胞でプロウイルスを1コピーもつ、Tリンパ球系の ACH-2 細胞と、プロウイルスを2コピー持つ、単球系の U 1 細胞を用い、マクロファージに対する影響を調べた。これらの細胞は無刺激の状態ではほとんどウイルスを産生せず潜伏感染状態となっているがサイトカインなどの刺激によりウイルスを産生するようになる。この持続感染細胞をマウスやヒトのマクロファージで刺激し、プロウイルスの活性化の状態とその機序について比較検討した。

#### 【方法ならびに成績】

1) ACH-2 や U 1 細胞と BALB/c または SCID マウスの腹腔内マクロファージとを混合培養し培養上清の P 24 抗原量を抗-P 24gag モノクローナル抗体を利用した ELISA キット (Abbott Laboratories) を用いて測定した。この実験では単球系の U 1 細胞のプロウイルスの発現が認められるのに対して、Tリンパ球系の ACH-2 細胞ではウイルス産生は起こらなかった。ACH-2 と U 1 細胞のプロウイルスの LTR 部分が組み込まれた CAT 発現ベクターを各々の細胞の DNA をテンプレートとして PCR を行い、CAT - basic vector (Promega) に組み込み作製した。1x10<sup>7</sup> 個の ACH-2 の親細胞である CEM 細胞または U 1 の親細胞である U937細胞に10 μg の HIV-LTR-CAT 発現ベクターを DEAE-デキストラン法にてトランスフェクションし、BALB/c または SCID マウスの腹腔内マクロファージで刺激して48時間後の CAT 活性を測定した。HIV-LTR-CAT 発現ベクターをトランスフェクションした CEM 細胞ではマウスのマクロファージの刺激による CAT 活性の上昇は認めないが、U937細胞では明らかな CAT 活性の上昇を認めた。

2) ヒトの単球/マクロファージを健康成人ドナーより分離し、ACH-2, U 1 細胞とを混合培養しウイルス産生を比較検討した。この場合はマウスの場合とは異なり ACH-2, U 1 細胞共にプロウイルスの発現が見られた。刺激因子として報告のある TNF-α について検討するために抗ヒト TNF-α 中和抗体を使ってヒトの単球/マクロファージ

ジによる活性化の抑制効果をみたところ ACH-2, U1 細胞共に抑制され、特に ACH-2 細胞においてはほぼ完全な抑制が見られた。

#### 【総括】

HIV の潜伏感染状態からのウイルス活性化におけるマクロファージの役割について調べたところマウスの腹腔内マクロファージによる持続感染細胞の刺激では、単球系の U1 細胞のウイルス産生は起こるが、Tリンパ球系の ACH-2 細胞のウイルス産生は起こらなかった。このことは、マウス腹腔内マクロファージに単球系 U1 細胞を特異的に活性化させるサイトカインが存在することを示唆した。HIV の感染モデルとして使用される hu-PBL-SCID マウスを用いる際、この活性物質がマウスに導入されたヒトの単球/マクロファージに選択的に作用しマクロファージ向性ウイルスの複製を促進する可能性がある。TNF- $\alpha$  や GM-CSF に対する中和抗体でマクロファージによる活性化作用は中和されず、U1 と特異的に刺激するマウスの活性物質については、今後その同定が必要である。ヒトの単球/マクロファージによる活性化について抗ヒト TNF- $\alpha$  中和抗体を使って調べた結果では、ACH-2 細胞ではほぼ完全に中和され、その作用は TNF- $\alpha$  によるものと考えられるが、U1 細胞では完全には中和されず他のサイトカインも影響していると考えられた。

HIV 感染者の体内においてもサイトカインの異常な分泌が報告されており、潜伏感染状態からのウイルスの活性化には種々のサイトカインの潜伏感染細胞に対する特異的な作用が深く関わっていることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、HIV 感染の無症候期における持続感染細胞に対するマクロファージの影響を調べたもので、HIV-1 に持続感染している ACH-2 細胞と U1 細胞を HIV-1 の標的細胞である Tリンパ球系と単球系の感染細胞のモデルとして用い、マウスおよびヒトのマクロファージで刺激し HIV 活性化の比較検討を行っている。マウスのマクロファージからは特異的に単球系細胞を刺激するサイトカインが分泌されており、HIV の感染モデルとして使用される hu-PBL-SCID マウスが、必ずしもヒトエイズに対応しない可能性があること、また、ヒトではマクロファージから産生される TNF- $\alpha$  が持続感染細胞のウイルス活性化に大きな影響を及ぼしているが、単球系の感染細胞においては、TNF- $\alpha$  以外のモノカインがウイルス発現に関与していることなどを示した。これらのことから、生体の HIV 産生にマクロファージが深く関わっていることを明らかにした研究であり学位の授与に値するものと考えられる。