



| | |
|--------------|---|
| Title | Difference of Virus Populations in HIV Carriers in Relation to AZT Treatment |
| Author(s) | 坂本, 隆志 |
| Citation | 大阪大学, 1997, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40273 |
| 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 | 坂 本 隆 志 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士(医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 2 8 4 2 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 9 年 3 月 18 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 | Difference of Virus Populations in HIV Carriers in Relation to AZT Treatment (HIV 感 染 者 に お け る AZT 治 療 に 伴 う ウ イ ル ス ポ ピ ュ レ ー シ ョ ン の 変 化) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 栗 村 敬 (副査) 教 授 山 西 弘 一 教 授 吉 崎 和 幸 |

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

抗 HIV 薬である AZT はヌクレオシドアナログの一つであり、HIV が生体に感染後、細胞内で逆転写される際にその逆転写酵素に取り込まれて、チェーンターミネーターとして働く。本薬剤は主要な抗 HIV 薬として AIDS 患者に投与されてきた。そして、現在までのところ、これにとってかわる薬剤もないことから、最近では AIDS 患者のみならず、HIV 感染者全体に広く用いられている。その一方、患者には非常に強い副作用が伴うことから、その投与は慎重に行わなければならない。さらに、AZT の投与を続けると、薬剤耐性ウイルスが出現することがわかっており、その投与の継続には、なんらかの指標が必要になっているのが現状である。AZT 耐性ウイルスの遺伝子解析により、薬剤耐性に関する遺伝子変異として、その逆転写酵素をコードする遺伝子 (pol) 上に 5 箇所の変異が見つかっている。このことによって、AZT 耐性ウイルスでは、逆転写酵素上のアミノ酸変異が 41: Met → Leu, 67: Asp → Asn, 70: Lys → Arg, 215: Thr → Phe または Tyr, 219: Lys → Gln で起こっていることが明らかとなっている。この中で 70: Lys → Arg および 215: Thr → Phe または Tyr の変異が薬剤耐性の獲得に直接に関与するものと考えられている。そこで、HIV 感染者における、AZT 投与にともなうウイルスの変化に注目し、末梢血単核球中プロウイルス DNA、血漿中のウイルス RNA ならびに培養分離株についてのポピュレーションの変化を DNA シークエンスにより、薬剤耐性に関する変異を指標として比較検討した。

[方法ならびに成績]

2 人の日本人 HIV 感染者 (ケース A および B) を調査対象とした。彼等は既に AIDS を発症しており (CDC stage IV)、抗 HIV 薬としては AZT 単独治療中である。AZT 投与前および投与開始後の末梢血単核球由来の培養分離株、そのときの HIV 感染者末梢血単核球中のプロウイルス DNA および血漿中のウイルス RNA についての遺伝子解析をした。培養分離株は、HIV 感染者の末梢血単核球を PHA 刺激した健常人の末梢血単核球と培養することによって得た。まず、培養分離株を PHA 刺激した健常人の末梢血単核球に感染し、プロウイルス DNA とした。次に、DNA (培養分離株由来および HIV 感染者の末梢血単核球中プロウイルス) または RNA (HIV 感染者の血漿中のウイルス) を

グラスパウダーにて抽出、これを鋳型として HIV 遺伝子の pol 領域に特異的なプライマーにより PCR 法で増幅した。次に、pUC 18 にてクローニング後、DNA シークエンスを決定し薬剤耐性に関する遺伝子の変異の有無を解析した。その結果、AZT 投与前では、2 人の HIV 感染者のいずれの標品からも、薬剤耐性に関する変異は全く検出されなかった。しかしながら、ケース A では投与開始 2 カ月後の解析結果には、少数ではあるが末梢血単核球中プロウイルス DNA および血漿中のウイルス RNA において、はやくも薬剤耐性に関する変異の存在が確認された。そして、ケース B の投与開始 3 カ月後、また、ケース A でも投与開始 6 カ月後には、3 種全ての標品において既に、薬剤耐性に関する変異を有するクローンが主要構成クローンとなっていた。また、遺伝子変異を有するクローンの組成は、各ポピュレーション内でそれぞれ異なっており、不均一なものであった。

[総括]

今回の 2 つのケースの遺伝子解析の結果において、AZT 投与前には薬剤耐性に関する変異は検出されなかった。しかしながら、投与開始 2 カ月後には、既に薬剤耐性株が末梢血単核球中のプロウイルス DNA および血漿中のウイルス RNA において認められた。このことから、AZT 耐性の獲得に関する遺伝子上の変異は、AZT の投与によって比較的容易に起こるものと考えられる。そして、薬剤耐性株の出現後も薬剤投与を続けると、複数の変異を伴った強い薬剤耐性を有する株が出現し、やがては、これらが薬剤感受性株に代わり主要バリエーションとなり、生体内全体のウイルスを占めてしまうことが明らかとなった。また、末梢血単核球中のプロウイルス DNA および血漿中のウイルス RNA に薬剤耐性株のポピュレーションの相違が認められることは、これらが異なった組織で感染、増殖していることを示唆している。以上のことは、AZT 耐性の存在をはじめとするウイルス遺伝子の解析の際には、目的に応じてそのターゲットの選択を行う必要があることを示している。

論文審査の結果の要旨

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の生体内における動態は不明な点が多い。一方、抗 HIV 化学療法剤の急速な開発によって薬剤の効果の判定ないしは薬剤耐性ウイルス出現の早期検出が必要となってきた。本研究では HIV 感染者の末梢血単核細胞内のプロウイルス DNA と血漿中のウイルス粒子由来ゲノム RNA について、アジドチミジン (AZT) 耐性変異をマーカーとして、その塩基配列を対比し次のような結果を得た。1. 末梢血単核細胞中のプロウイルス DNA とウイルス RNA よりみたポピュレーションは一致せず、HIV は生体内では末梢血細胞以外で主として増殖している。2. AZT 耐性変異は治療開始 2 カ月で早くも見つかる。3. AZT 治療開始後、時を追って高度耐性変異をみるようになる。

以上のことは、今後 HIV 感染症の予後、治療効果をモニターする上で重要な知見であり、学位の授与に値するものと認める。