



Title	Interleukin-9 receptor α chain mRNA formation in CD8+ T cells producing antihuman immunodeficiency virus type 1 substance(s)
Author(s)	Hossain, Mohammad Mofazzal
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40716
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	ホサイン モハammad モファザル Hossain Mohammad Mofazzal
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13710 号
学位授与年月日	平成10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	Interleukin-9 receptor α chain mRNA formation in CD8 ⁺ T cells producing antihuman immunodeficiency virus type 1 substance (s) (抗 HIV 活性物質を産生する CD8 ⁺ T 細胞における IL-9 レセプター α mRNA の発現)
論文審査委員	(主査) 教授 上田 重晴 (副査) 教授 山西 弘一 教授 吉崎 和幸

論文内容の要旨

【目的】

CD8陽性T細胞の HIV-1複製抑制活性は HIV-1感染者の体内における HIV-1複製抑制およびエイズ発症阻止に極めて重要な役割を果たしている。この CD8陽性T細胞の HIV-1複製抑制活性の少なくとも一部は、細胞傷害性T細胞(CTL)活性以外で、CD8陽性T細胞から産生される可溶性因子に起因していると考えられている。近年、CCケモカインが CD8陽性T細胞の培養上清中に存在する可溶性 HIV-1複製抑制因子として報告され、CCケモカインレセプターがマクロファージトロピック HIV-1株のセカンドレセプターとして働き、CCケモカインはマクロファージトロピック HIV-1株の感染を阻止することが明らかとなっている。また、HIV-1感染者の CD8陽性T細胞の培養上清中に存在する HIV-1複製抑制因子を解析し、CCケモカインとは異なる可溶性 HIV-1複製抑制因子が産生され、その因子は HIV の複製を転写レベルで抑制している可能性が示唆されている。本研究では、HIV-1複製抑制因子を高レベルに産生している CD8陽性T細胞から得られた mRNA を使用して cDNA ライブラリーを作製し、サブトラクション法によりスクリーニングした結果、IL-9レセプター α (IL-9R α) 鎖遺伝子に関連した cDNA クローンが得られ、CD8陽性T細胞培養上清の HIV 複製抑制活性レベルと CD8陽性T細胞中の IL-9R α mRNA の発現レベルとの関連性について解析を行なった。

【方法および成績】

CD8陽性T細胞培養上清の HIV 複製抑制活性の測定は、HIV-1感染性 DNA クローンをヒト CD4陽性株化T細胞にトランスフェクションした後、CD8陽性T細胞の培養上清を加えて培養し、産生される HIV-1 p17抗原量を ELISA により測定比較することにより行なった。また、CD8陽性T細胞中の IL-9R α 鎖遺伝子の発現レベルを比較する目的で、 2×10^6 の CD8陽性T細胞から得られた poly (A) + RNA を使用して Ready-To-Go T-primed first strand kit によりファースト鎖 cDNA 合成を行なった。IL-9R α 鎖遺伝子特異的プライマーを使用した PCR を行なった後、電気泳動し、特異的バンドの有無を確認した。ハウスキーパー遺伝子 (G3PDH 遺伝子) 特異的プライマーを使用した PCR も行ない、コントロールとした。15例 (4例の HIV 非感染者と11例の HIV 感染者) において、CD8陽性T細胞培養上清中の HIV 複製抑制活性レベルと CD8陽性T細胞中の IL-9R α 鎖遺伝子 mRNA の発現レベルを検討した。15例のうち5例において、CD8陽性T細胞培養上清の HIV 複製抑制活性が高レベル (80%以上の HIV 産生抑制活性)

であった。その5例のうち4例において、CD8陽性T細胞中のIL-9R α 鎖遺伝子 mRNA が検出可能であった。CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性が低レベル（80%以下のHIV産生抑制活性）であった10例のうち1例において、CD8陽性T細胞中のIL-9R α 鎖遺伝子 mRNA の発現が検出可能であった。3例の日本人HIV非感染者においては、CD8陽性T細胞培養上清中のHIV複製抑制活性は低レベルで、CD8陽性T細胞中のIL-9R α 鎖遺伝子 mRNA も検出されなかった。1例のアフリカ人HIV非感染者（その配偶者はHIV-1感染者）においては、CD8陽性T細胞培養上清中のHIV複製抑制活性が高レベルで、CD8陽性T細胞中のIL-9 α 鎖遺伝子 mRNA の発現も検出可能であった。IL-9R α 鎖遺伝子発現の特異性を検討する目的で、ファースト鎖 cDNA 中のG3PDH 遺伝子 cDNA 濃度を定量し、10アトモルのG3PDH 遺伝子 cDNA を含んだファースト鎖 cDNA をIL-9R α 鎖遺伝子特異的PCRに使用して得られたIL-9R α cDNA の量をHPLCにより半定量した。その結果は、電気流動して特異的バンドの有無を確認した場合と同様であった。CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性のレベルとCD8陽性T細胞中のIL-9R α 鎖遺伝子 mRNA 発現レベルの関連メカニズムを解析する目的で、市販の組み換えヒトIL-9可溶性レセプターのHIV複製抑制活性を検討したが、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ではHIV複製抑制活性がみられなかった。

【総括】

HIV-1複製抑制因子を高レベルに産生しているCD8陽性T細胞のmRNAを材料としてcDNAライブラリーを作製し、サブトラクション法によりスクリーニングしてIL-9R α 鎖遺伝子に関連したcDNAが得られた。CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性レベルとCD8陽性T細胞中のIL9レセプター mRNA の発現レベルとの間に関連性がみられた。組み換えヒトIL-9可溶性レセプターには1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でもHIV複製抑制活性がみられず、両者の関連のメカニズムとしては、CD8陽性T細胞から産生された可溶性IL-9RがHIV-1複製抑制因子そのものである可能性、あるいは、HIV-1複製抑制因子の産生を誘導する可能性は否定的であり、両者の関連はアクシデンタルなものである可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、HIV-1複製抑制因子を高レベルに産生しているCD8陽性T細胞のmRNAを材料としてcDNAライブラリーを作製し、IL-9レセプター α (IL-9R α)鎖遺伝子に関連したcDNAが得られ、CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性レベルとCD8陽性T細胞中のIL-9R α mRNA の発現レベルとの関連性について解析を行なったものである。検討した15例のうち5例において、CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性が高レベル（80%以上のHIV産生抑制活性）であったが、その5例のうち4例において、CD8陽性T細胞中のIL-9R α 鎖遺伝子 mRNA が検出可能であった。それに対して、CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性が低レベル（80%以下のHIV産生抑制活性）であった10例では、1例においてのみCD8陽性T細胞中のIL-9R α 鎖遺伝子 mRNA の発現が検出可能であった。その関連のメカニズムを解析する目的で、組み換えヒトIL-9可溶性レセプターのHIV複製抑制活性を検討したが、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度ではHIV複製抑制活性がみられなかった。

以上のように、本研究において、CD8陽性T細胞培養上清のHIV複製抑制活性レベルとCD8陽性T細胞中のIL-9R α mRNA の発現レベルとの関連性が明らかとされ、そのメカニズムは未だ不明ではあるが、HIV感染者のエイズ発症予防に重要であるCD8陽性T細胞のHIV複製抑制活性を解析する上で有意義であると評価でき、学位の授与に値すると考えられる。