The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒトヘルペスウイルス6の細胞への感染様式並びに免疫系細胞への影響
Author(s)	平田, 祐子
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42569
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

【120】

氏　　名	平　田　祐　子（ひら　た　ゆう　こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　16389　号
学位授与年月日	平成13年3月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病理系専攻
学　位　論　文　名	ヒトヘルペスウイルス6の細胞への感染様式並びに免疫系細胞への影響
論文審査委員	（主査） 教　授　山西　弘一 （副査） 教　授　生田　和良　　教　授　上田　重晴　　教　授　堀井　俊宏

論文内容の要旨

【目的】

ヒトヘルペスウイルス6（HHV－6）は二つのバリアント（HHV－6AとHHV－6B）に分けられる。HHV－6Bは幼児期に突発性発疹として初感染し潜伏感染を起こす。HHV－6Aについては感染者の割合が低く、その病原性や免疫系への関与等詳細は不明である。今回我々はHHV－6Bが潜伏感染し、宿主の免疫機構の中心となる単球／マクロファージ系細胞に注目し、HHV－6A、Bの感染様式と免疫系への影響について解析した。

【方法並びに成績】

健康成熟末梢血から単球を分離しマクロファージと樹状細胞に分化させた。ウイルスはHHV－6AとしてU1102株、DA株、HHV－6BとしてHST株、臨床分離株2株を用いた。感染率を見る一次抗体に糖蛋白Bと前期核抗原に対するモノクローナル抗体を用いた。MHC class Iに対する一次抗体にはモノクローナル抗体W6／32（DAKO）を用いた。マクロファージでの生存細胞数をトリパン・ブルーで、上清中のIL－12、TNF－αをELISA法で測定した。MHC class Iの細胞表面への発現を感染2日後の単球系樹立細胞、マクロファージ、樹状細胞で行った。加熱及び紫外線照射によりウイルス不活化とフォスフォノ酪酸（PFA）添加によりどの時期の遺伝子発現が必要かを調べた。免疫沈降法によりHST株、U1102株感染細胞でのMHCclass Iの新生と分解を、感染直後、12. 24. 48時間後で比較した。

【結果】

HHV－6Bに比べてHHV－6A感染細胞では生細胞の減少率が大きく、HHV－6Aは細胞傷害性が強いと考えられた。U1102株のみならず、HHV－6Aに属するDA株でも同様だったことより、U1102株に特異的なものではなく、HHV－6Aに共通の現象と思われた。HHV－6BであるHST株と突発性発疹患者からの臨床分離株2株は同じ動態を示した。HHV－6Bは2～3週間目においても生存細胞数が多く残っていたにも係わらず増殖感染が終了し潜伏感染が成立した。これに対しU1102株は4週目の生存細胞数が激減した状態でも感染が持続していた。HST株に比して、U1102株ではIL－12の誘導が危険率2％で有意に高かった。同時に測定したTNF－αでは差は認められなかった。強い細胞傷害性とIL－12を通しての免疫系の活性化はウイルス側に不利であり、感染者数が少ない原因の一つと考えられた。

次に樹状細胞の感染2日後のIFAによりHST、U1102株共に高い感染率を示すが、HST株ではMHC class Iの

発現は変わらず、U1102株では減少した。MONO MAC 6、THP－1、U937細胞、マクロファージでのMHC class Ⅰの発現をFACSで解析したが変化は認められなかった。樹状細胞でのみHHV－6AによるMHC class Ⅰの発現の抑制が認められ、MHC classⅡ、CD 1 a、CD83では有意な差が認められなかったことからMHC class Ⅰのみに認められる発現の抑制と考えられた。次に加熱による粒子蛋白の変性と紫外線照射によるウイルス遺伝子の発現の抑制によりMHC class Ⅰの抑制は認められなくなったことから何らかのウイルス遺伝子の発現が必要であることが判明した。PFAの添加によりウイルスの早期遺伝子の発現まででこの現象は認められることが判明した。ただし易感染性のドナーでは感染2時間後からMHC class Ⅰの抑制が認められた。

続いてMHC class Ⅰの新生の抑制と分解の亢進のどちらが主たるメカニズムかを検討する為に経時的な免疫沈降法を施行した。HST感染細胞では感染直後、感染12、24、48時間後と変わりなくMHC class Ⅰの新生が生じるが、U1102株感染細胞では感染後は新生が抑制された。分解には差が認められなかった。

以上からMHC class Ⅰ新生の抑制が主たるメカニズムと思われた。

【総括】

HHV－6A、Bの感染様式及び免疫系への影響を検討した。HHV－6Bがマクロファージで増殖後潜伏感染するのに対し、HHV－6Aは細胞傷害性が強く、免疫系を活性化するIL－12の誘導が有意に高かった。これはウイルスに不利であり、HHV－6Aのprevalenceが低い理由の一つと考えられた。

一方、樹状細胞に特異的にHHV－6AによるMHC class Ⅰの抑制が認められた。加熱や紫外線照射によるウイルスの不活化やPFAの添加からウイルス初期遺伝子の発現が必要であり、経時的な免疫沈降法よりMHC class Ⅰ産生の抑制が主たるメカニズムであることが判明した。

論文審査の結果の要旨

ヒトヘルペスウイルス6（HHV－6）は2つのバリアント（HHV－6A、HHV－6B）に分類され、HHV－6Bは突発性発疹の原因ウイルスであるが、HHV－6Aについては不明な点が多い。これらのウイルスは宿主の免疫機構の中心となる免疫系細胞に感染することに注目し、HHV－6A、Bの感染様式と免疫系への影響について解析した。健康成人末梢血から単球を分離し、マクロファージと樹状細胞に分化させ、HHV－6A、Bを感染させた。マクロファージにおける感染様式を観察したところ、HHV－6Bが潜伏感染したのに対して、HHV－6Aは細胞障害性が強く増殖感染した。また、上清中のIL－12、TNF－αを測定した結果TNF－αの発現に両ウイルスには差はなく、HHV－6A感染ではIL－12の誘導が有意に高かった。このことはIL－12を通しての免疫系の活性化はウイルス側には不利であり、HHV－6Aの感染の低い原因とも考えられた。次にHHV－6で単球系樹立細胞、マクロファージ、樹状細胞でのMHC class Ⅰの発現への影響を調べたところ、樹状細胞でMHC class Ⅰの発現が抑制された。ウイルスの不活化、フォスフォノ酪酸添加、免疫沈降法によりこの機構が、ウイルスの初期遺伝子までの発現が必要であり、MHC class Ⅰのdown regulationの主たるメカニズムがMHC class Ⅰ蛋白の合成の抑制であることが判明した。このことはウイルスの持続感染の成立に有利と考えられた。以上からHHV－6A、Bでは感染様式や免疫系細胞への影響も違うことが判明し、両ウイルスの感染状況の異なることが説明でき、学位の授与に値すると考えられる。