The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Ability to Induce p53 and Caspase-Mediated Apoptosis in Primary CD4+ T Cells Is Variable among Primary Isolates of Human Immunodeficiency Virus Type1
Author(s)	河本, 聡志
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43899
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

氏　　名　河本聡志（こうもとさとし）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　17643　号

学位授与年月日　平成15年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科分子病態医学専攻

学位論文名　Ability to Induce p53 and Caspase-Mediated Apoptosis in Primary CD4+ T Cells Is Variable among Primary Isolates of Human Immunodeficiency Virus Type 1
（HIV-1臨床分離株間のCD4+ T細胞におけるp53およびカスパーゼを介したアポトーシス誘導能の違い）

論文審査委員　（主査）
教　授　生田　和良

（副査）
教　授　松浦　善治　　教　授　塩田　達雄

論文内容の要旨

［目的］

AIDS病態はCD4+ T細胞の破壊に基づいている。その主な機構として、ウイルス感染によるアポトーシスが報告されてきた。これまでに、HIV-1各種遺伝子産物の細胞株における単独強制発現により多くの報告がされてきたが、実際のウイルス複製に伴うアポトーシス誘導におけるこれら遺伝子産物の関与については不明な点が多い。そこで本研究では、HIV-1臨床分離株を末梢血単核球（PBMC）に感染させ、ウイルス株間のアポトーシス誘導能の差異と、その差異の原因となる因子について検討を行った。

［方法ならびに成績］

実験室株2株（B型）、無症候期またはAIDS期由来の臨床分離株12株（B型5株およびAE型7株）を健常人由来PBMCへ感染させ、経時的なアポトーシス量とウイルス複製の測定、更に細胞内アポトーシス関連因子の検討を行った。

1．アポトーシス量の測定

感染PBMCの形態変化をHoechst 33342を用いた核染色により観察した。また、フローサイトメトリーを用いたTUNEL法により経時的なアポトーシスの定量を行った。その結果、いずれのウイルス株もPBMCにアポトーシスを誘導したが、実験室株およびほとんどの臨床分離株で感染7日後のアポトーシス量が全体の10%前後であるのに対し、AE型の2株は23-24%であり、HIV-1のアポトーシス誘導能には臨床分離株間で大きな差があることが示された。

2．ウイルス複製の検討

ウイルス複製は、培養上清中Gag p24量をELISAで経時的に測定した。その結果、いずれのウイルス株も複製カイネティクスに大きな差は認められなかった。

3．細胞内アポトーシス関連因子の検討

細胞内アポトーシス実行因子であるカスパーゼの関与を検討するために、カスパーゼ阻害剤 Z-VAD-FMK の添加培養を行ったところ、HIV-1 誘導アポトーシスは著しく減少した。また、癌抑制遺伝子産物である p53 量の変化をウエスタンブロットにより経時的に検討したところ、アポトーシスの程度は感染後の p53 量と相関性を示すことが明らかになった。これより、PBMC における HIV-1 誘導アポトーシスは p53 およびカスパーゼを介すると考えられた。

［総括］

HIV-1 の PBMC におけるアポトーシス誘導能には臨床分離株間で大きな差があることが示され、その細胞内機序に p53 およびカスパーゼが関与すると考えられた。また、HIV-1 のアポトーシス誘導能は感染後の p53 量と相関性を示すことが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

AIDS 病態は $CD4^+$ 細胞の破壊に基づいており、その主な機構としてウイルス感染によるアポトーシスが報告されてきた。これまでに、HIV-1 各種遺伝子産物の細胞株における単独強制発現により多くの報告がされてきたが、より *in vivo* の条件に近いと考えられる感染性ビリオンを用いた解析は少ない。本研究は、これまで報告のない臨床分離株と末梢血単核球（PBMC）の系によって、複製を伴ったウイルス株間のアポトーシス誘導能の差異と、その差異の原因となる因子について検討を行ったものである。

HIV-1 14 株（B および AE 型）を健常人由来 PBMC へ感染させたところ、特に AE 型 2 株で強アポトーシス誘導が認められた。また、細胞内アポトーシス誘導機序には株間で違いがないこと、アポトーシスの程度は感染後の p53 量と相関性を示すことが明らかになった。更に、最近得られた結果として、強アポトーシス誘導責任領域は、ウイルス複製には必須でないアクセサリー遺伝子 *vpu* における中途停止コドンであることを報告した。

本研究は、HIV-1 の PBMC におけるアポトーシス誘導能には臨床分離株間で大きな差があり、その細胞内機序に p53 およびカスパーゼが関与すること、また、HIV-1 のアポトーシス誘導能は感染後の p53 量と相関性を示すことを明らかにしたものであり、学位の授与に値すると考えられる。