

Title	Superinfection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) to cell clone persistently infected with defective virus induces production of highly cytopathogenic HIV-1
Author(s)	岩部, 幸枝
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47454
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 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 いわ ぶ ゆき え
岩 部 幸 枝

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20942 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 19 年 3 月 23 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 Superinfection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) to cell clone persistently infected with defective virus induces production of highly cytopathogenic HIV-1
(不完全ウイルスを産生する持続感染細胞クローンへの HIV-1 重感染は、強細胞傷害性 HIV-1 産生を誘導する)

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 〕

ヒト免疫不全ウイルス-1 (HIV-1) のゲノムはきわめて多様で、いくつかのサブタイプに分類される。さらに近年、CRF01_AE (AE 型) のような、サブタイプ間での組換え型の出現も多く報告されている。しかし、recombinant form 出現機序に関する詳細については不明な点が多い。一方、抗 HIV-1 薬は、活発に複製しているウイルスに対しては有効であるが、持続/潜伏感染したウイルス量の低下には効果が低いことが知られている。しかも、持続/潜伏ウイルスによる病原性への関与については不明な点が多い。そこで、本研究では、サブタイプ B (B 型) HIV-1 持続感染細胞へ、AE 型 HIV-1 の重感染実験を行い、持続/潜伏ウイルスが病態に関わる可能性および recombinant form 出現の有無を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

まず、*pol* 領域の変異のため非感染性のドーナツ型ウイルス粒子を産生する B 型 HIV-1 持続感染細胞 (L-2 細胞) へ、タイ由来 AE 型 HIV-1 臨床分離株による重感染実験を行った。重感染の検出には、B 型 HIV-1 に特異的なモノクローナル抗体 (V17、V32) を用いた。L-2 細胞への AE 型重感染において、細胞傷害性 (CPE) はほとんど認められず、ゆっくりと重感染が成立した。しかし、重感染細胞からの産生ウイルスは、MT-4 への初感染に対して強い CPE を示した。

次に、産生ウイルスの形態を電子顕微鏡にて観察したところ、重感染細胞からの産生ウイルスは成熟型および未成熟型の混合であった。このことは、重感染細胞の間接蛍光抗体法 (IFA) で V17 陽性率が 90%以上であったことと矛盾した。そこで、重感染成立後の細胞について、B 型および AE 型のインテグレーション効率を Alu-PCR により調べた。その結果、AE 型がインテグレーションした割合は約 10%であった。また、重感染細胞をトリプシン処理することで V17 陽性率が低下したことより、見かけの V17 陽性率は重感染成立細胞より産生されたウイルスが重感染未成立の細胞へ吸着したものであると考えられた。さらに、mRNA 及び産生ウイルスのゲノムにおける B 型と AE 型

についてそれぞれ半定量的 RT-PCR で比較したところ、プロウイルスと同様に、AE 型は B 型の 1/10-1/100 程度であった。

一方、ウエスタンブロット法で、重感染細胞および産生ウイルスの表現型 (Gag、Pol、Env) を調べたところ、Gag および Env では AE 型は検出限界以下であり、B 型が優位であった。したがって、AE 型ウイルス由来 Pol によって、B 型粒子の Gag が成熟していることが示唆された。

[総 括]

本研究により、B 型 HIV-1 持続感染細胞である L-2 細胞で AE 型重感染が成立し、強細胞傷害性ウイルスが産生されることが明らかとなった。また、その機序として、AE 型 HIV-1 が L-2 細胞にインテグレーションされ、そこから少なくとも AE 型 Pol 蛋白質が発現し、それが L-2 ウイルス粒子に complement されることにより、見かけ上正常な形態をした B 型粒子が産生されることが考えられた。現在、このような complementation により産出される粒子に由来する recombinant form 出現の可能性について、さらに解析を進めているところである。

論文審査の結果の要旨

HIV-1 の recombinant form 出現機序に関する詳細や、持続/潜伏ウイルスによる病原性への関与については不明な点が多い。そこで、本研究では非感染性粒子産生 HIV-1 サブタイプ B (B 型) 持続感染細胞 (L-2 細胞) へ、HIV-1 CRF01_AE (AE 型) 臨床分離株の重感染実験を行い、それらについて検討したところ、L-2 細胞で AE 型重感染が成立し、強細胞傷害性ウイルスが産生されることが明らかとなった。また、その機序として、AE 型ウイルスが L-2 細胞にインテグレーションされ、そこから少なくとも AE 型 Pol 蛋白質が発現し、それが L-2 ウイルス粒子に complement されることにより、見かけ上正常な形態をした B 型粒子が産生されることが考えられた。以上のことより、この論文が HIV-1 持続感染細胞およびウイルスの危険性を示すよいモデルであると考えられ、学位論文に値する。