

論文内容の要旨

本論文は、General Introduction、Study I、Study IIおよびConclusionで構成されている。

現在、ウイルス増殖を効果的に抑制するエイズ治療薬が開発されているが、1) ウイルスを完全には排除できないため持続的治療が必要、2) 高価なため発展途上国での使用が困難、3) 薬剤耐性ウイルスの出現、といった問題が指摘されている。また、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染初期でのウイルス増殖は病態進行に関与していると考えられているが、感染初期における臨床症状は軽度のためHIV感染を認識することが難しく、感染初期からの治療は困難である。これら諸問題を克服するためにエイズワクチン開発が急務であるが、未だ有効なワクチンは開発されていない。ワクチン開発の戦略を考えるためにもHIVの病原性を理解することが必要とされており、特に病態進行に深く関係すると考えられているHIV感染初期におけるウイルス増殖機序および、病態進行を阻止する有効な免疫機構を解明する必要がある。しかし、感染初期における深部組織の検索はヒトでは不可能であり、ヒトに近い動物モデルであるサルを用いた研究がエイズ研究には有用である。

Study Iでは、感染初期におけるウイルス動態と感染後期での病態との関与を明らかにすることを目的としている。そのために、サルに感染・発症するサル免疫不全ウイルス (SIV) とHIVとのキメラウイルス (SHIV) の中で、遺伝的に近縁ながら病原性が大きく異なる強毒SHIVと弱毒SHIVを用いて、感染初期における全身リンパ系組織を解析し、ウイルス増殖、全身深部臓器へのウイルス拡散、免疫細胞動態を解析した。サルに急激なエイズ死をもたらす強毒SHIV株または、3年以上エイズを発症しない弱毒SHIV株をそれぞれアカゲザルに経直腸接種し、接種1、2、4週後に剖検を行い各種リンパ系組織中のウイルス増殖、ウイルス主標的細胞であるCD4陽性T細胞の減少を比較解析した。その結果、強毒株と比べて弱毒株は粘膜感染初期に全身臓器でのウイルス増殖レベルが低いだけでなく、ウイルス拡散速度が遅く、腸から腸間膜リンパ節、胸腺へと段階的に増殖のピークを示した。その結果、感染4週以内における全身でのウイルス動態の差が病態進行に大きく影響を与えることが示唆された。また強毒株は感染4週以内に全身リンパ系臓器のCD4陽性T細胞を枯渇状態にまで減少させたのに対し、弱毒株は小腸のCD4陽性T細胞だけを減少させたことから、ウイルスの標的組織として小腸が脆弱であることを明らかにしている。

一方、現在までのサル／エイズモデルにおいて最もウイルス抑制効果の高いワクチンは弱毒生ワクチンであるが、安全性に問題があるためヒトで実用化できない。そこでStudy IIでは、弱毒生ワクチンによるウイルス増殖抑制機構を理解するために、弱毒生ワクチン株をアカゲザルに免疫し、その1ヶ月後に強毒株を経直腸攻撃接種したサルの感染初期におけるウイルス増殖および、(前述のStudy Iでの結果から、特に腸管に注目して)免疫細胞動態を解析し、Study Iでの非免疫ザルに対する強毒株接種での結果と比較した。その結果、生ワクチン接種ザルでは非免疫ザルと比較して、攻撃接種2週後に見られるウイルス増殖のピークが1/2400に低く抑えられた個体 (PP) と、攻撃接種ウイルスが検出限界以下に防御された個体 (CP)、更にウイルス増殖があまり抑制されなかった個体 (NP) の3群に別れることを示した。CPでは全ての組織において攻撃接種ウイルスの感染が見られず、CD4陽性T細胞の減少も起きていなかった。PPでは、末梢血のみならず全身組織でのウイルス増殖を著減させていた。さらに、PPでは、免疫機能の実行部隊として働くメモリーCD4陽性T細胞の急速な減少を全身組織で防御し、非免疫ザルのようなCD4陽性T細胞の枯渇は攻撃接種後4週間では見られなかった。一方、NPでは、ウイルス増殖があまり抑えられず、非免疫ザルのような急激なCD4陽性T細胞の減少が引き起こされていた。NPでは他のサル群と比較し顕著なT細胞の活性化が腸管でみられたことから、免疫細胞の過度の活性化が起こってしまうと生ワクチン免疫の防御効果が抑制され、且つCD4陽性T細胞の減少が起こる事を示唆している。

以上の結果から、感染後早期からウイルス増殖を抑制し且つ、全身のメモリーCD4陽性T細胞の減少を防ぎ、ウイルス感染に対して脆弱な腸管でもウイルス増殖・細胞傷害性を抑制しうる免疫を誘導することが病態進行を止める有効なワクチンに重要であると結論している。また、免疫誘導機構だけでなく、免疫細胞の過度の活性化を制御する機構を解明することが、より有効なエイズワクチン開発に必要と指摘している。

氏名	深澤 嘉伯
----	-------

論文審査の結果の要旨

エイズは今なお世界的な問題であり、その病原ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス（HIV）の感染と増殖を防御する効果的な治療法の開発が望まれている。そのためには、ウイルスの感染機序および病原性に関する詳細な解析が必要とされているが、遺伝子・細胞レベルでの研究は精力的に行われて多くの知見が蓄積しているのに対し、感染個体レベルでの研究は比較的少なく不明な点が多く残されているのが現状である。本研究において申請者は、個体レベルでの感染病態を解析するため、サル免疫不全ウイルス（SIV）とHIVとのキメラウイルス（SHIV）によるアカゲザル感染モデル系を用いている。ウイルス感染個体における経時的な解析は、ヒトにおいては末梢血を用いたものに限られ、しかも感染初期を解析することは非常に困難であるが、本研究ではアカゲザルモデルを用いてウイルス接種後一ヶ月以内で経時的に剖検することにより、ウイルスの病原性に深く関与している感染初期の深部組織における解析を可能としている。

Study Iでは、サルに急激なエイズ死をもたらす強毒SHIV株、または、3年以上エイズを発症しない弱毒SHIV株を用いて、感染初期におけるウイルス動態と感染後期での病態との関与を明らかにすることを目的としている。それぞれのウイルスをアカゲザルに経直腸接種し、接種1、2、4週後に剖検を行い比較解析した結果、強毒株と比べて弱毒株は粘膜感染初期に全身臓器でのウイルス増殖レベルが低く、ウイルス拡散速度が遅いことを示し、感染4週以内における全身でのウイルス感染動態の違いが病態進行に大きく影響を与えることを示唆した。さらに、弱毒株の結果から、ウイルスの標的臓器として小腸の脆弱性を明らかにし、エイズの病原性を理解するうえで非常に重要な知見を示した。

Study II においては、弱毒生ワクチンによるウイルス増殖抑制機構の理解を目的として、弱毒生ワクチン免疫ザルに強毒株を経直腸攻撃接種し、感染初期におけるウイルス増殖および、免疫細胞動態を解析した。その結果、生ワクチン接種ザルでは非免疫ザルと比較して、攻撃接種2週後に見られるウイルス増殖のピークが1/2400に低く抑えられた個体と、攻撃接種ウイルスが検出限界以下に防御された個体、更にウイルス増殖があまり抑制されなかった個体の3群に別れることを示した。攻撃接種ウイルスの増殖が低く抑えられた個体群の結果から、生ワクチン免疫は末梢血のみならず全身組織でのウイルス増殖を著減させ、免疫機能の実行部隊として働くメモリーCD4陽性

T細胞の急速な減少を防御していることを明らかにした。このことは、全身のメモリーCD4陽性T細胞の減少を防ぎ、ウイルス感染に対して脆弱な腸管でもウイルス増殖・細胞傷害性を抑制することが有効なワクチン開発に重要であることを示唆している。更にウイルス増殖があまり抑制されなかった個体の結果から、免疫細胞の過度の活性化により生ワクチン免疫の防御効果が抑制されてしまう可能性を示唆し、ワクチン開発において有効な免疫を誘導するだけでなく、免疫細胞の過度の活性化を制御する機構を解明する必要性を掲げている。

以上、申請者は本論文において、HIV感染モデルとしてサルを扱える利点を最大限に活用し、感染初期における個体レベルでのウイルス感染動態および免疫細胞動態の解析を行った。本研究で得られた結果は病原性の異なるウイルスおよび、弱毒生ワクチンを用いて、全身臓器のウイルス感染動態を比較することで初めて得られた知見である。本研究で得られた成果は、末梢血からは得ることの出来ない個体内部でのウイルス感染動態と免疫細胞動態を明らかにするものであり、ワクチン開発における免疫誘導能、ウイルス抑制効果を評価する上で重要な知見である。本論文の内容に関して、Study Iに関する論文は国際学術誌に掲載されており、その価値は当該分野の研究者において高く評価されている。このように、本論文は、自然と人間との自立的な関わりの限界特性を明らかにし、自然環境動態の将来予測を行うための方法論と実際を教育研究することを目指して設立された相関環境学専攻自然環境動態論講座に相応しい内容を備えたものと言える。

よって本論文は博士（人間・環境学）の学位申請論文として価値あるものと認める。また平成21年2月5日、論文内容とそれに関する事項について試問を行った結果、合格と認めた。