

氏名	ユーリ レオニドビッチ コズレフ Iouri Leonidovich Kozyrev
学位(専攻分野)	博士 (人間・環境学)
学位記番号	人博第120号
学位授与の日付	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	人間・環境学研究科人間・環境学専攻
学位論文題目	Study of AIDS pathogenesis using infectious molecular clones of simian/human immunodeficiency chimeric viruses. (サル/ヒト免疫不全ウイルス感染性分子クローンを用いたエイズの病態解析)
論文調査委員	(主査) 教授 速水正憲 教授 池永満生 助教授 三浦智行

論文内容の要旨

ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)は、後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因ウイルスである。HIV-1の病原性の解明や、ワクチン・治療薬の開発のためには個体レベルで実験的に取り扱える動物モデルが必要であるが、HIV-1は宿主域が狭く、有効な感染動物モデルが存在しない。本研究はHIV-1の病原性を解明するための基礎情報を得ることを目的とし、アカゲザルに感染するサル免疫不全ウイルス(SIV)とHIV-1ゲノムの約半分を組み合わせたキメラウイルス(SHIV)とアカゲザルの感染実験系を用いてウイルスゲノムの病原性について遺伝子、培養細胞および感染個体レベルで統合的に解析したものである。

第一部では、アカゲザルに短期間でAIDSを発症させるSHIV(89.6P株)のストックウイルスからPCR法を用いて、ウイルス増殖能に強く寄与すると考えられるゲノムの3'側半分を増幅し、親株であるSIVの5'側半分と組み合わせた感染性クローンを4つ作成した。このうちサル細胞培養系での増殖能・細胞障害活性がもっとも高かった1クローンを4頭のサルに接種した。その結果、接種後2週目に認められる一過性の血漿ウイルス量のピークは89.6P株と同レベルまで上昇し、CD4陽性細胞数の減少が認められた。しかし、89.6P株とは異なり、3~4週以降抗体が上昇し、血漿中のウイルス量が減少していった。また、CD4陽性細胞が完全にはなくならず、4頭中3頭で30週以内に接種前のレベルに回復した。33週目の病理組織学的検索でも89.6P株でみられた胸腺の著明な萎縮やリンパ節のT細胞領域(旁皮質)の細胞脱落は認められなかった。今回作成したクローンと89.6P株との間に増殖能以外の因子による質的違いが存在する可能性が考えられた。

一方、ヒトのAIDS患者の発症過程に置いてTh1型のサイトカインからTh2型のサイトカインへ生体内での産生傾向がシフトすることが報告されている。このことからTh2型のサイトカインが生体内でAIDSウイルスの増殖に影響を与えていることが予想される。そこで第二部では、生体内におけるTh2型サイトカインのウイルス感染・増殖への影響を実験的に調べるため、Th2型サイトカインの一つであるIL-5遺伝子をSHIVに組み込んだものを作成した。それにあたっては、ヒトのIL-5遺伝子をSHIVゲノム中央部にあるvpr遺伝子と置き換えたもの(3sj-IL5)と3'末端に位置するnef遺伝子と置き換えたもの(NI-IL5)の2種類を作成した。両者ともヒトとサル由来リンパ球樹立細胞株およびアカゲザルより分離した末梢血リンパ球で良く増殖し、高力価のIL-5を産生した。ウイルスにより産生されたIL-5は、IL-5依存性細胞株をよく増殖させたことからその生理活性があることが確認された。IL-5を挿入したウイルスは、挿入しなかった各々の遺伝子を欠失させた親ウイルスと比較して増殖が良かった。3sj-IL5とNI-IL5では、NI-IL5の方が良く増殖し、より多くのIL-5を産生した。そこで、NI-IL5をアカゲザルに実験感染させたところ、生体レベルでもSHIVの増殖が増強されることが確認された。すなわち、感染個体内におけるSHIVの感染・増殖にTh2型サイトカインの一つであるIL-5が影響を及ぼすことが明らかになった。

以上、本研究で得られた結果は、HIV-1の感染に起因するAIDSの発症を感染個体のレベルで理解する上で重要な知見であり、また、構築された種々のSHIV感染性分子クローンは、今後のAIDSの病態解明およびワクチン開発のための研

究材料として役立つものと期待される。

論文審査の結果の要旨

後天性免疫不全症候群（AIDS）は、1980年前後に米国で初めて報告された新しい疾患であるが、短期間の内に燎原の火のごとく世界中に広がったことから国際的な大問題となっている。米国をはじめとする先進国においては様々な抗ウイルス薬の開発が積極的に行われ、それらの多剤併用療法により AIDS による死亡増加率は減少傾向にあるが、死亡数そのものは依然増加し続けている。薬剤治療についても患者の精神的経済的負担は無視できないものがあり、さらに近年薬剤耐性株の出現が問題となっており、開発途上国はもちろん先進国においてもより効果的な予防・治療法の開発が望まれている状況に変わりはない。AIDS の原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス 1 型（HIV-1）については、その発見以来、多くの遺伝子レベル、培養細胞レベルでの研究が行われてきたが、病原性の解明やワクチン・治療薬の開発のためには個体レベルで実験的に取り扱える動物モデルが必須である。しかし、HIV-1 は宿主域が狭く、感染実験には稀少な動物であるチンパンジーが使用されており、ワクチン開発は主にヒトへの直接接種で進められている。このような状況を打開する為に、HIV-1 に近縁でアカゲザルに感染するサル免疫不全ウイルス（SIV）と HIV-1 ゲノムの約半分を組み合わせたウイルス（SHIV）によるサル感染モデル系が確立された。

本申請者は HIV-1 の生体レベルにおける病原性を理解するための基礎情報を得ることを目的とし、SHIV とアカゲザルの感染実験系を用いて 2 つの実験研究を行った。第一部では、アカゲザルに短期間で AIDS を発症させる SHIV（89.6P 株）からウイルスの増殖能に関係の深いゲノムの 3' 側半分をクローニングし、親株である SIV と組み合わせた感染性分子クローンを作成し、培養細胞レベルおよび感染個体レベルで統合的に解析を行った。その結果、クローンウイルスと急性発症株である 89.6P 株との間に増殖能以外の因子による質的違いが存在する可能性を示唆している。このことは、未だその分子基盤が明らかとはなっていない 89.6P 株の病原性を解明する上で非常に興味深いものである。第二部では、生体内における Th2 型サイトカインの AIDS 発症への影響を実験的に解析するため、インターロイキン 5（IL-5）遺伝子を組み込んだ SHIV 感染性分子クローンを作成し、培養細胞レベルおよび感染個体レベルで解析を進めた。その結果、培養細胞中で高力価の IL-5 産生とウイルス増殖能の増強が確認され、アカゲザルへの感染実験において IL-5 産生と増殖能の増強が観察された。この結果は、ウイルス感染と宿主側の防御機構との関係を理解する上で重要である。

以上、本研究で得られた結果は、HIV-1 の感染に起因する AIDS の発症を感染個体のレベルで解明する上で重要な知見であり、また、構築された種々の SHIV 感染性分子クローンは、今後の AIDS の病態解明およびワクチン開発のための研究材料として役立つものと期待される。こうした情報は従来数多く行われてきた遺伝子レベル、培養細胞レベルの実験のみからでは得られないものであり、個体レベルでの実験病理学的手法を合わせて統合的に解析を行った本研究の成果であると言える。本学位申請論文では AIDS ウイルスによる病態発現について新たに得られた結果をもとに従来の定説を論理的かつ慎重に検証し、その上で進展させている。さらに、本論文の成果は AIDS ウイルスの個体レベルでの病原性の解明のために重要な知見をもたらすのみならず、ウイルスに対する宿主側の防御機構を解明するうえでも重要な情報になると思われる。申請者は本論文の内容に関して、既に第一部に関する論文が国際学術誌（Virology 誌）に受理されており、本論文の価値は当該分野の研究者にも高く評価されている。本論文は、人間と環境の問題を総合的に考察し、現在人類の直面している困難な諸問題の根本的解決に資する創造的研究をめざす人間・環境学専攻自然環境論講座にふさわ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）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成13年1月25日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。