

氏 名	もと はら ま き こ 元 原 麻 貴 子
学位(専攻分野)	博 士 (人間・環境学)
学 位 記 番 号	人 博 第 373 号
学位授与の日付	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
研 究 科 ・ 専 攻	人 間 ・ 環 境 学 研 究 科 相 関 環 境 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Influence on thymopoiesis of simian and human immunodeficiency virus infection. (サル・ヒト免疫不全ウイルスが胸腺細胞新生に及ぼす影響)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 松 賢 志 助教授 倉 橋 和 義 助教授 三 浦 智 行

論 文 内 容 の 要 旨

エイズは CD4 陽性 T 細胞の減少により免疫不全をきたす疾患であり、その病原ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) の感染者は余世界において今なお増え続けている。より効果的な治療法の開発のためには個体レベルでのウイルス感染病態を詳細に知ることが重要であるが、ヒトにおいては深部臓器における経時的解析は困難であり、動物モデルによる解析が必要である。しかし、HIV-1 はアカゲザル等の実験用動物には感染しないことから、エイズ様疾患を発症するサル免疫不全ウイルス (SIV) と HIV-1 とのキメラウイルス (SHIV) が作製され、HIV-1 感染の動物モデルとして現在広く用いられている。本研究は、エイズ病態に深く関与する CD4 陽性 T 細胞の産生・供給の場である胸腺に着目して、ウイルス感染早期におけるウイルス量の定量、免疫組織学的解析、および胸腺内前駆細胞の分化増殖能の解析を経時的に行った。前駆細胞の分化増殖能の解析にあたっては、マウスの胎仔胸腺器官培養 (FTOC) 法を新たに導入した。

Part1 では、感染後早期にエイズ様疾患を発症する強毒 SHIV と無症状を長期間維持する弱毒 SHIV を HIV-1 の主要な感染経路である直腸粘膜経路により接種し、経時的に殺処分して感染初期 (接種 4 週以内) における感染病態を解析した。その結果、末梢血における解析では、強毒・弱毒 SHIV 感染ザルで特に大きな差異は見られなかったが、胸腺組織の免疫組織染色では、それらの間に大きな差異が見い出された。すなわち強毒 SHIV 感染ザルの胸腺組織の萎縮および CD4 陽性 T 細胞数の減少と未分化な胸腺細胞の指標である TdT⁺ 細胞の消失が認められ、胸腺細胞の FACS 解析では CD4 陽性 T 細胞の前駆細胞である CD4⁺ CD8⁺ 共陽性細胞 (DP 細胞) の割合が減少していた。一方、弱毒 SHIV 感染ザルの胸腺組織および胸腺細胞ではそのような所見は得られなかった。さらに、感染後経時的に胸腺における前駆細胞の分化増殖能を FTOC 法により比較した結果、強毒 SHIV 感染では、胸腺内の DP 細胞の減少に先立って胸腺内前駆細胞 (CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺ TN 細胞) の分化増殖能が障害されていることが明らかとなった。このように、TN 細胞から DP 細胞への分化増殖障害がその後の DP 細胞の減少を引き起こし、胸腺における T 細胞産生能の低下を引き起こすものと考えられた。

そこで、Part2 では Part1 の結果を受けて、強毒 SHIV 感染による胸腺内前駆細胞の分化増殖障害の原因として考えられる二つの可能性を検証した。まず第一に、TN 細胞がウイルス感染によって直接破壊され、分化増殖できなくなった可能性を考え、FTOC の培養上清中に強毒あるいは弱毒 SHIV を添加した。その結果、非常に高濃度のウイルス量では分化増殖が抑制されたものの強毒・弱毒ウイルス間で差はなく、生体内で想定されるウイルス量では分化増殖能が障害されないこと、また、培養上清に添加したウイルスは培養期間中に増殖しないことが明らかとなり、この可能性は否定された。次に第 2 の可能性として、強毒 SHIV 感染により TN 細胞中の分化できる細胞集団が減少し分化増殖能が低下した可能性を考え、TN 細胞集団中の亜集団の解析を行った。強毒 SHIV を感染させた新生仔ザルでは TN 細胞中の CD2⁺ の割合が減少していたのに対し、弱毒 SHIV 感染ザルでは TN 細胞中 CD2⁺ の割合が減少せず、むしろ増加することを確認した。さらに、CD7 をマーカーに加え、FTOC の系を用いて分化増殖しうる集団を絞り込んだ。その結果、CD2⁺ CD7⁺ の細胞集団はよく分化

増殖する細胞群であるが、CD2⁺CD7⁻ 細胞の分化増殖能は非常に低いことが明らかとなった。以上の結果は、強毒 SHIV 感染において見られた分化増殖障害の原因が、TN 細胞中の CD2⁺CD7⁺ の細胞集団の減少に起因することを示唆するものであり、この減少はウイルス感染による直接的胸腺内前駆細胞破壊ではなく間接的影響によるものであることが推察された。

本研究により、ヒトでは解析できない感染初期の胸腺におけるウイルス感染病態を動物モデルを用いて明らかにし、エイズの主徴である CD4 陽性 T 細胞減少の機序解明と、T 細胞の免疫再構築を標的としたエイズ治療戦略を考える上で重要な知見が得られた。

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、その原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) の感染と増殖を抑え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を必要としているが、遺伝子・細胞レベルでの研究は精力的に行われて知見も蓄積しているのに対し、感染個体レベルでの研究は少なく不明な点が多いのが現状である。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-1 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、本研究ではサルモデルを用いてウイルス接種後に経時的に剖検することにより、深部臓器における感染初期の解析を可能としている。感染病態の解析にあたって、エイズが CD4 陽性 T 細胞の減少を主徴としていることから、申請者は特に、その産生・供給の場である胸腺に注目して、マウスの胎仔胸腺器官培養 (FTOC) アッセイ法を新たにエイズ研究の分野に導入することに成功しており、その意義は大きい。

Part1 においては、強毒・弱毒 SHIV 感染初期における T 細胞の胸腺内前駆細胞 (CD3⁺CD4⁺CD8⁻TN 細胞) の分化増殖能の相違を明らかにすることを目的としている。感染後経時的に胸腺における前駆細胞の分化増殖能を比較した結果、強毒 SHIV 感染では、TN 細胞から CD4⁺CD8⁺ 共陽性細胞 (DP 細胞) への分化増殖が障害されていた。この結果は、DP 細胞は CD4 陽性 T 細胞の前駆細胞であることから、その減少によって胸腺からの成熟 CD4 陽性 T 細胞の供給が低下することを示している。胸腺内前駆細胞である TN 細胞から DP 細胞への分化増殖障害がエイズ病態の主徴である CD4 陽性 T 細胞減少の機序の一つであることを世界で初めて示したことは注目される。

Part2 において、Part1 で示された強毒 SHIV 感染による胸腺内前駆細胞の分化増殖障害の原因として二つの仮説を立て、その検証を行ったことは妥当な道筋といえる。まず、第一に申請者は TN 細胞が、ウイルス感染によって直接破壊され分化増殖できないという可能性を検討している。その結果、FTOC の培養上清中に強毒あるいは弱毒 SHIV を添加すると、非常に高濃度のウイルス量では分化増殖が抑制されたものの両者に差はなく、生体内で想定されるウイルス量によって分化増殖能は障害されないこと、また、培養上清に添加したウイルスは培養期間中に増殖しないことを示しており、この可能性を否定した。次に、第二の可能性として、強毒 SHIV 感染によって TN 細胞中の分化増殖できる細胞集団が減少し分化増殖能が低下するという仮説を検討している。強毒 SHIV を感染させた新生仔ザルでは TN 細胞中の CD2⁺ の割合が減少していたのに対し、弱毒 SHIV では CD2⁺ の割合が減少せず、むしろ増加することを確認している。さらに FTOC 法による解析によって TN 細胞中の CD2⁺CD7⁺ の細胞集団が最もよく分化増殖する細胞群であることを示している。以上の結果は、強毒 SHIV 感染において、TN 細胞中の CD2⁺CD7⁺ の細胞集団が減少する可能性を支持するものであり、胸腺内におけるウイルスによる影響は間接的なものと考えられる。今後強毒 SHIV 感染による胸腺内における CD2⁺CD7⁺ 細胞の減少機序の解析が、エイズ病態における CD4 減少機序の解明に役立つものと期待される。

以上、申請者は本学位論文において、HIV-1 感染モデルとして霊長類モデルを用いて感染個体レベルでの感染病態の解析を行った。本研究で得られた結果は、剖検が可能なサルの胸腺組織および胸腺内前駆細胞の分化増殖能を強毒・弱毒 SHIV で比較することで初めて得られた知見である。Part1 では、ヒトでは感染時期を特定できないことから解析が非常に困難である感染初期に注目して解析を行い、新たな知見を得ている。さらに、新たな FTOC アッセイ法を導入することで、胸腺組織構造の萎縮や DP 細胞群の減少といった現象面だけでなく、DP 細胞が減少する機序を分化増殖の観点から明確に提示している点も高く評価できる。本研究で得られた成果は、末梢血の解析からは得ることのできない個体内部での感染

病態を明らかにするものであり、体内の免疫再構築を標的としたエイズ治療戦略を立てる上で重要な知見である。本論文の内容に関して、Part1 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高く評価されている。このように、本学位論文は、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関連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）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成19年1月26日、論文内容とそれに関した事項について試問を行った結果、合格と認めた。