

氏 名	えの せ よし み 榎 瀬 良 美
学位(専攻分野)	博士 (人間・環境学)
学位記番号	人 博 第 53 号
学位授与の日付	平成 11 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	Virological analysis in mucosal transmission of simian immunodeficiency viruses in macaque monkeys ~Animal model for heterosexual transmission of HIV~ サル免疫不全ウイルスのマカク属サルへの粘膜感染におけるウイルス学的解析～ヒト免疫不全ウイルスの異性間感染のための動物モデル～ (主査)
論文調査委員	教授 速水正憲 教授 中村榮太郎 教授 丸山圭蔵

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) は後天性免疫不全症候群 (AIDS) の病原ウイルスとして知られ、とくに異性間性交による HIV の感染はアジアを中心とした世界規模の問題となっており、また近年わが国においてもその感染者数は増加の傾向にある。HIV の感染を阻止するためには、ウイルスの感染初期過程を明らかにすることが必要とされるが、ヒトを実験的に扱うことは倫理的に不可能であり、また HIV はチンパンジーといった限られたサル種にしか感染しないため、ウイルスの生体内への侵入部位である膣粘膜を介した感染を解析することは困難である。そこで申請者は、ヒトにおける HIV の異性間感染モデルとして、サル免疫不全ウイルス (SIV) とサルの実験感染系を用いてウイルスの粘膜感染の機序を解明することを目的とし、粘膜感染初期における血液中および生殖器内のウイルスの動態、およびウイルスの示す細胞指向性と粘膜感染性についてのウイルス学的解析を行った。

多くのウイルスポピュレーションをもつ (ポリクローナルな) SIVmac32H を雌のカニクイザルの膣腔内に接種した後、末梢血リンパ球 (PBMC) および膣洗浄液中に含まれる細胞から最初に検出されたウイルス DNA を調べた。その結果、接種したポリクローナルなウイルスは、感染局所である生殖器においてポピュレーションは減少し、血液中出现した時点では単一のポピュレーションを示した。接種 1 カ月後では、血液中のウイルスポピュレーションは徐々に増加したが、生殖器では血液中に存在するポピュレーションの一部が確認された。また経膣接種に用いたウイルスを静脈内接種した雌のカニクイザルについても同様に解析したところ、血液中では接種ウイルスと同様に多様性のあるポピュレーションを示したのに対し、生殖器では血液中で確認されたポピュレーションのごく一部を示した。これらのことから、粘膜局所から血液中、および血液中から粘膜局所への通過の際にウイルスポピュレーションが減少することが明らかになった。

さらに、皮膚や粘膜下に存在するマクロファージ (Mφ) や樹状細胞 (DC) が、HIV の異性間感染に重要な役割を果たしている可能性が指摘されていることから、カニクイザルの培養 PBMC および分化誘導させた Mφ と DC におけるウイルスの増殖を調べ、雌のカニクイザルへの経膣接種実験によってその粘膜感染性を検討した。その結果、SIVmac239 は PBMC で、SIVmac239/316E は PBMC と Mφ の両方で増殖しうることが確認され、またウイルス感染 DC を非感染 PBMC と混合培養した場合に SIVmac239/316E が優位に増殖した。このような細胞指向性の異なる 2 種のウイルス株を等量に混合したウイルス液を雌のカニクイザルに膣腔内接種し、PCR によって各個体の PBMC とリンパ節内および膣腔内細胞におけるウイルス DNA の検出を行った。その結果、接種後これらの細胞に初めて出現したウイルスの遺伝子解析により、1 頭の膣腔内細胞から SIVmac239/316E が 1 クローン確認された以外は全ての細胞から SIVmac239 の遺伝子配列が確認された。以上のことから、必ずしも Mφ や DC への細胞指向性をもつウイルスが易粘膜感染性ではないことが明らかになった。

これらの結果から、粘膜感染の初期段階で血液中と生殖器内に存在するウイルスに相違が見られ、ウイルスは粘膜から血

液中、また逆に血液中から粘膜にウイルスが移行する過程でそのポピュレーションが減少し、その間に何らかの障壁が存在することが明らかとなった。またウイルスの粘膜感染性を決定する要因として、従来、ウイルスのM ϕ やDCへの細胞指向性が示唆されていたが、そのようなウイルスが必ずしも優位には感染せず、その決定要因とはなりえないことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）は主として異性間感染で爆発的に伝播しているが、その粘膜感染機序については詳細な検討はされていない。ヒトにおいては感染時期を特定できず、その初期感染過程を実験的に解析できないことが、その解明を大きく妨げている理由の1つである。しかし、いまだにHIVの新たな感染防止に有用な薬剤やワクチン開発が難航している現在、易粘膜感染性ウイルスの同定とその生体への侵入機序の解明は、その効果的な予防対策を立てるうえで必須の基礎情報であり、その早期の解析が待たれている。本申請者は、HIVの異性間感染をSIV - マカク属サル動物モデルによって再現し、特に粘膜感染初期過程におけるウイルスの動態を、感染経路によるウイルスの感染性の相違だけでなく、ウイルスの生物学的性状も踏まえて総合的に検討している。

その結果、粘膜を経ずに直接、カニクイザルの静脈内に接種されたウイルスは、多様性を保持しつつ感染個体内でそのポピュレーションを拡大させているが、一方、雌ザルの腔腔内に接種されたウイルスは、粘膜を通過し末梢血中出现する過程でウイルスポピュレーションが減少することが明らかになった。さらに腔腔内から得られたウイルスは、末梢血中に存在する多様なウイルス中の少数派の遺伝子型であることから、粘膜感染の初期過程において血液中と生殖器内のウイルス分布が異なるという興味深い結果を得ている。このことは、異性間感染によって伝播しうるウイルスを解析するうえで、従来の血液のみに注目した解析以外に、粘膜組織内に存在するウイルスを同定する必要性を示している。

さらに粘膜感染の際には、粘膜組織内に多く分布している抗原提示細胞であるマクロファージや樹状細胞がウイルス感染の標的細胞ではないかと言われていることから、ウイルスの細胞指向性を調べ、その粘膜感染性との関連を解析している。ウイルスがCD4陽性T細胞やマクロファージに感染する以外に、樹状細胞を介してT細胞へ感染することがこれらの培養細胞で観察されたが、マクロファージや樹状細胞に指向性を示すウイルスが、必ずしも優位に粘膜感染しないことが明らかになった。本研究ではウイルスの細胞指向性とその粘膜感染性との関係を実験的に検証することによって、従来、示唆されていた仮説とむしろ逆な結果が得られ、経粘膜感染において、必ずしも局所のそれらの細胞における増殖能だけでは説明できないことを実証した。

本研究のように実験動物を用いた研究は、生体内のウイルスの動態を感染経路や感染時期、さらに組織別に検討することを可能にし、その得られた成果は、HIV感染者を対象とした研究のみからでは得られない重要な知見と考えられる。このように実験的に経粘膜感染の初期におけるウイルスの動態を明らかにすることは、性感染によるHIV感染の予防と治療法の向上に、大きな貢献を果たすと考えられる。本研究が主題としたウイルス感染機序の解明は、本研究科においてウイルスの伝播様式を明らかにすることを一つの目的としている「ウイルス自然史論」からみて、資するところが大きいと考えられる。

申請者は本論文の内容に関して、既に2編の論文を国際学術誌に発表しており、さらに1編が国際学術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評価されている。

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11年1月13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。