

審査の結果の要旨

氏名 中山 香

本研究は、HIV 感染の予後と最も関連が見られる慢性期の血中 HIV 量に注目し、慢性期における血中 HIV 量が免疫系に及ぼす影響を明らかにするために、血中 HIV 量の異なる未治療の HIV 感染者の末梢血単核球 (PBMC) を用いて機能の比較を行い下記の結果を得ている。

1. 慢性期における血中 HIV 量が免疫系に及ぼす影響を明らかにするために、血中 HIV 量の異なる未治療の HIV 感染者の PBMC を用いて非特異的な刺激に対する反応を調べたところ、病態進行の早い高 HIV 量の HIV 感染者 (高 HIV 群) では低 HIV 量の HIV 感染者 (低 HIV 群) に比べて MIP-1a、MIP-1 β 、RANTES、IFN- γ 、IL-17 の産生能が顕著に低下していることを示した。
2. PBMC から磁気細胞分離システム (MACS) を用いて T 細胞、NK 細胞、単球を単離し、非特異的な刺激に対する応答性を調べたところ、本研究結果で見られた産生量の差は T 細胞に起因していることを示した。また、上記のサイトカインは T 細胞上で互いに相関して産生していることを示した。
3. 高 HIV 群での MIP-1a、MIP-1 β 、RANTES、IFN- γ 、IL-17 の産生量の低下が T 細胞の量的な違いに起因している可能性を考え、産生細胞である T 細胞の絶対数、およびサイトカイン産生能を有する T 細胞の分化・成熟段階 [セントラルメモリー (CD45RA-/CCR7+ ; CM) エフェクターメモリー (CD45RA-/CCR7- ; EM) エフェクター (CD45RA+/CCR7- ; E) 分画] を調べたが、低 HIV 群と高 HIV 群で有意な相違は認められなかった。
4. 高 HIV 群での産生量の低下が T 細胞の質的な違いに起因している可能性を考え、細胞内サイトカイン染色を用いて、T 細胞刺激後 5 時間でのサイトカイン産生細胞の頻度、個々の細胞の発現量を比較したところ、高 HIV 群では低 HIV 群に比べ CD8 陽性(+)T 細胞において個々の細胞の IFN- γ 産生量が有意に低下していることを示した。
5. 高 HIV 群におけるサイトカイン産生能の低下は T 細胞の活性化 (CD38+)・疲弊状態 (PD-1+、CTLA-4+) が影響している可能性を考え比較したところ、低 HIV 群に比べて高 HIV 群の T 細胞は高度に活性化・疲弊された状態にあることを示した。さらに、T 細胞のメモリー (CM、EM) 分画における活性化・疲弊状態の頻度は PBMC 刺激後 48 時間での MIP-1a、MIP-1 β 、RANTES、IFN- γ 、IL-17 産生能と有意に、あるいは傾向のある逆相関を示した。この結果から、これらのサイトカイン産生能の低下は産生細胞であるメモリー (CM、EM) T 細胞の慢性的な活性化や疲弊状態と直接関連していることが示唆された。また、CD8+T 細胞の活性化状態は PBMC 刺激後 5 時間での CD8+T 細胞の IFN- γ 産生量とも有意に逆相関を示した。このことから、T 細胞の過剰な活性化は直接 CD8+T 細胞での IFN- γ 産生量の低下に影響していることを明らかにした。
6. 刺激後 5 時間での IFN- γ 産生量と、48 時間での MIP-1a、MIP-1 β 、RANTES、IL-17 との相関を調べたところ、いずれも有意な相関を示した。このことから、高 HIV 群での IFN- γ 産生量の低下が MIP-1a、MIP-1 β 、RANTES、IL-17 の低下を引き起こしている可能性を示した。これ

らサイトカイン産生の経時的な産生量を調べたところ、刺激後 18 時間以降でサイトカイン産生量が急速に蓄積されていることを示した。そこで、サイトカイン産生を惹起する免疫応答が行われていると考えられる 18 時間での遺伝子発現動態の解析を行ったところ、刺激後 18 時間で遺伝子発現量に相違が認められたのは IFN- γ のみであり低 HIV 群に比べて高 HIV 群で有意に低下していた。このことから高 HIV 群での MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、IL-17 の低下は IFN- γ 産生量の低下が原因であることを示した。

- 7、高 HIV 群でのサイトカイン産生能の低下、および T 細胞の活性化・疲弊状態は長期間の抗 HIV 療法により回復するかどうか解析を行った。その結果、2 年以上長期間にわたり HIV を低レベルに抑制できている治療群では有意にサイトカイン産生能、T 細胞の活性化・疲弊状態を回復することを示した。サイトカイン産生能と血中 HIV 量との関係をより明確にするため、治療開始直後 1-2 ヶ月で血中 HIV 量が減少しかけている時点でのサイトカイン産生能について解析を行った。その結果、治療開始直後 1-2 ヶ月にも関わらず、MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、IL-17 の産生量は 2 年以上治療を行っている治療群と同程度の産生量を示した。このことから、高 HIV 群でのサイトカイン産生能の低下は血中 HIV 量減少直後に回復し始め、長期間の治療により健常人レベルまで回復することを示した。

以上、本論文は HIV 感染の予後と最も関連が見られる慢性期の血中 HIV 量に注目し、血中 HIV 量の異なる慢性期 HIV 感染者の PBMC の機能の解析から、T 細胞の慢性的な活性化/疲弊により MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、IL-17 の産生が低下しており、またこれらのサイトカイン産生低下は CD8+T 細胞による IFN- γ 産生の低下に起因している可能性を明らかにした。本研究は臨床材料を用いた研究で病態進行の早い HIV 感染者の免疫病態の本質、免疫破綻を引き起こす原因と考えられる分子を明らかにすることができた。HIV 感染症で病態進行を引き起こす分子メカニズム解明のための解析対象を特定できたことは大きな成果であると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。