

能かについて検討を行う予定である。

PC-47.

d4T, 3TC 長期投与患者に出現したバツファローハンプの 3 例

(臨床検査医学)

○加藤 宏基、守谷 研二、天野 景裕
尾形 享一、山元 泰之、福武 勝幸

【目的】 抗 HIV 療法 (HAART) 中の患者に腹部や背部など体幹を中心とした脂肪蓄積と四肢の脂肪減少を伴う症例がみられ、リポジストロフィとして注目されている。今回、当科通院加療中にバツファローハンプが認められた症例について報告する。

【症例】 当院通院加療中の HIV 感染症患者のうち、2003 年から 2004 年にかけて自他覚的に 3 例にバツファローハンプを認めた。症例 1: 40 歳代男性。1998 年 12 月から d4T+3TC+NFV にて抗 HIV 療法を開始、2004 年 6 月に後頸部の腫脹に気付いた。2004 年 7 月から TDF+3TC+EFV に変更して経過観察中である。症例 2: 30 歳代男性。1996 年 7 月から抗 HIV 薬を開始し、d4T+3TC+ABC+EFV 投与中の 2004 年 5 月に後頸部腫脹が出現した。2004 年 6 月から TDF+3TC+ABC+EFV に変更して経過をみているが変化は認められていない。症例 3: 50 歳代男性。1998 年 7 月から d4T+3TC+NFV に抗 HIV 薬を変更、2003 年 10 月頃から後頸部の腫脹に気付いていた。2004 年 3 月頃から急激な増悪をきたし、頸部前屈や頸椎圧迫によると考えられる疼痛が出現した。2004 年 6 月から HIV 消耗症候群に対して r-hGH の投与を開始し経過を観察している。

【考察】 抗 HIV 療法施行中のリポジストロフィの原因としては、プロテアーゼ阻害薬に起因するという説や逆転写酵素阻害薬投与例での報告、HIV 感染そのものによる内分泌・代謝によるものなどが考えられている。当科で経験した 3 例は、全員 5 年間以上にわたり d4T, 3TC を含む薬剤を内服していた。バツファローハンプは脂質代謝異常による諸問題や美容的問題以外にも、頸部前屈による活動制限や頸椎圧迫による神経症状が出現するなど、患者に様々な影響を及ぼすため、その原因検索や治療対策の検討が必要と考えられる。

PC-48.

Vero 細胞継代による麻疹ワクチン AIK-C 株の性状の変化

(八王子・小児科)

○上島 肇

(小児科学)

武隈 孝治、星加 明徳

弱毒生ワクチンは野生分離株を感受性宿主以外の細胞で継代することにより樹立されている。弱毒麻疹ワクチン AIK-C 株は 1954 年に分離された Edmonston 株を羊腎細胞で継代し更に鶏胎児胚細胞に adapt させたワクチン株である。弱毒化の機構がすべて解明されてはいないが、39°C での増殖能が極めて低い温度感受性は P 蛋白 439 位のアミノ酸が Pro であること、Vero 細胞に small plaque を形成する性状は F 蛋白 278 位のアミノ酸が Leu であることが明らかとなっている。

麻疹ワクチン AIK-C は鶏胎児胚細胞培養で製造される。近年、ワクチン製造用の細胞として Vero 細胞が許可され Vero 細胞培養系で麻疹ワクチン AIK-C の製造が可能かどうかを検討した。

今回我々は Edmonston 株を弱毒化したワクチン株 AIK-C から全長 cDNA を挿入したプラスミド pIC-MVAIK-F278Leu (small plaque type: S type) と pIC-MVAIK-F278Phe (large plaque type: L type) を作成し、Reverse genetics の技法を用い感染性ウイルス MVAIK-S/B2、MVAIK-L/B2 を回収した。MVAIK-SL/B2V1 は MVAIK-S/B2 を Vero 細胞で large plaque cloning し、MVAIK-L/B2 を Vero 細胞で 8 回継代し MVAIK-SL/B2V8 を回収した。AIK-C 株は 33°C でよく増殖し 39°C で全く増殖しない ts と Vero 細胞に small plaque を形成する性状を備えるが、MVAIK-SL/B2V8 は Vero 細胞で large plaque を形成し 39°C で増殖し AIK-C 株の性状を失っていた。

MVAIK-SL/B2V8 は AIK-C 株と比して、N 領域に 1 ケ所、P 領域に 2 ケ所、C 領域に 1 ケ所、F 領域に 3 ケ所、H 領域に 1 ケ所、L 領域に 5 ケ所の合計 13 ケ所のアミノ酸変異を認めた。これらのアミノ酸のうち 12 ケ所は Edmonston 野生株と相同性があり親株への回帰が考えられた。F 蛋白 278 位が Leu → Phe への変異は Vero 細胞での継代の早い段階で認められた。

コントロールとして pIC-MVAIK-F278Phe (L type)

を B95a 細胞で 9 代継代し回収した感染性ウイルス MVAIK-L/B9 では AIK-C 株と同じ ts の性状を保持し、AIK-C 株と比して、N 領域に 1 ケ所、L 領域に 3 ケ所の合計 4 ケ所のアミノ酸変異を認め、P、C、M、F、H 領域に変異を認めなかった。

この結果、Vero 細胞で継代し馴化した麻疹ワクチン株 AIK-C は ts 及び small plaque 形成する性状を失うことが明らかとなり Vero 細胞での麻疹ワクチン株の製造は困難であると考えられた。

PC-49.

VAV PH ドメインと会合する HSP40 とストレス応答について

(免疫学)

○浅倉 英樹、豊田 博子、水口純一郎

(難治性免疫疾患研究センター)

善本 隆之

【目的】 VAV 分子は、Rac 特異的 G ヌクレオチド交換因子 (GEF) として細胞の増殖分化に関わるが、構造的には特徴的なドメイン構造を持ち、GEF 活性を有する Dbl 相同 (DH) ドメインに隣接して存在する PH ドメインは、PI3 キナーゼ (PI3-K) の基質や産物との相互作用が報告されている。

われわれは、新たに PH ドメインが、HSP70 の co-chaperone として働く HSP40 分子と会合する事を見出したので、細胞ストレス応答におけるこれら分子間相互作用の機能的寄与を調べた。

【方法】 分子間相互作用は、HEK293T 細胞を用いた一過性トランスフェクション系、あるいは WEHI-231 B lymphoma のトランスフェクタントを用いた系における免疫沈降法で分析した。細胞ストレスは、加温、重金属、抗がん剤等を使い、感受性の変動は、WEHI-231 B lymphoma の各種トランスフェクタントの増殖阻害やアポトーシス感受性を目安とした。

【結果および考察】 HSP40 ファミリーのメンバーには、VAV 分子およびその PH ドメインと強く会合する HSP40-1 [subfamily B, member 4] と、殆ど会合しない HSP40-2 [subfamily B, member 1] があるが、どちらも HSP70 分子と会合した。HSP40-1 分子は、アポトーシスに関与する JNK 分子とも会合したので、VAV や HSP のトランスフェクタントと Hyperthermia や重金属イオンで HSP70 の発現を誘導した系を

利用して、細胞ストレス感受性の変動を調べているので、分子間相互作用との機能的関連性を検討した結果を報告したい。

【謝辞】 本研究に用いた HSP40-2、および HSP70 遺伝子は、中部大学・大塚健三博士からご供与頂いたので深謝いたします。

*PC-50.

ヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV-6) 感染 T 細胞における遺伝子ネットワーク解析

(内科学第一)

○高久 智生、張 宇、大屋敷一馬

(難治性免疫疾患センター)

大屋敷純子

近年、DNA マイクロアレイ技術の進歩によりウイルス感染症における網羅的遺伝子発現解析が可能となった。しかしながら、病態と直結する遺伝子群の絞り込みは難しく、遺伝情報解析 (バイオインフォマティクス) はポストゲノム時代の最大の課題と考えられている。一方、ヒトヘルペスウイルス群に属するヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV-6) は、細胞・臓器移植患者などの易感染宿主において、重篤な感染症を引き起こすため移植医療の成否にかかわるウイルスとして知られている。そこで、HHV-6B 感染による宿主免疫応答システムの解析するために、炎症・ストレス関連遺伝子群をスポットしたヒトオリゴヌクレオチドマイクロアレイを作成し、HHV-6B 感染成人 T 細胞性白血病株を用いて経時的に遺伝子発現変化を解析した。また、遺伝子制御ネットワーク解析ソフトウェア (VoyaGene[®]、三井情報開発) を用いて遺伝子制御ネットワークの構築を試みた。

HHV-6B の急性感染系では、宿主免疫応答の結果として抗アポトーシス反応遺伝子、および Th1/Th2 バランスを制御する遺伝子発現の変化が主体であった。一方、慢性持続感染系では、CCR4 の発現が著明に上昇し、その他のサイトカインおよびサイトカインレセプターの発現の変化が認められた。この結果をデータベースとして VoyaGene[®] を用いて HHV-6B 感染に関与する主要な遺伝子発現ネットワークの構築を試みた結果、ITK (IL-2 inducible T-cell kinase) を中心とした遺伝子制御ネットワークが抽出された。ITK は TEC ファミリーのプロテインキナーゼの一つで、T 細