

氏名(本籍)	ほり 堀	みつ 光	お 雄	(茨城県)
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第1,422号			
学位授与年月日	平成7年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	Application of polymerase chain reaction for the studies on intrauterine transmission of human T-cell leukemia virus-1 in experimental animal model and on evaluation of chemotherapy to adult T-cell leukemia/lymphoma. (動物モデルを用いてのヒトT細胞白血病ウイルス1型の子宮内伝播について、および成人T細胞白血病の化学療法評価についてのポリメラーゼ・チェーン反応の応用)			
主査	筑波大学教授	医学博士	林	英生
副査	筑波大学教授	医学博士	久保	武士
副査	筑波大学教授	医学博士	本村	幸子
副査	山之内製薬(株)第3分子医学研究所所長 (筑波大学客員教授)薬学博士			
副査	筑波大学助教授	医学博士	増保	安彦
副査	筑波大学助教授	医学博士	赤座	英之

論 文 の 要 旨

〈目的〉

ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)の感染経路は母児感染、輸血感染および夫婦間感染がある。母児感染では授乳による感染が認められており、母乳遮断により感染予防が行なわれているが、なお完全に予防できず、子宮内感染ないし産道感染が疑われている。しかしそれを実験的に証明した報告は少ない。また、成人T細胞白血病/リンパ種(ATL/L)の化学療法の効果判定には、プロウイルスやウイルスの体内動向を知ることが必要であるが、その方法はまだ確立されていない。本研究ではラットにおいてHTLV-1の感染モデルを確立し、その母児感染経路を明らかにし、その過程で用いたポリメラーゼ・チェーン反応によるプロウイルス検出法を、ATL患者とHTLV-1キャリアーで非ホジキン型悪性リンパ腫患者(NHL)の治療効果の判定に応用出来るか否かについて検討した。

〈材料および方法〉

8匹の妊娠F344ラットに、ヒトHTLV-1産生細胞株であるMT-2細胞を妊娠14日目に尾静脈より 2×10^6 個注入した。妊娠23日目に帝王切開し、79匹の胎児を得た。そのうち8匹の胎児から肝臓と脾臓を摘出し、全DNAを抽出した。他の71匹の胎児は正常なF344ラットに哺乳させて4週間育てた。

(フォスター・ナーシング)。1匹の妊娠ラットには出産後24時間以内に同量のMT-2細胞を尾静脈より注入し、出産した6匹の胎児に授乳させて4週間育てた。4週後、それぞれの児ラットの眼窩静脈より採血し末梢血単核球(PBMC)を単離した。HTLV-1プロウイルスの検出にはプロウイルス遺伝子の2領域(*gag*と*pX*)をプライマーとして用い、分離したDNAおよびPBMC破砕液を鋳型としてPCRを行った。プロウイルス遺伝子の2領域断片が双方ともに検出され、しかも2回以上検出された場合をプロウイルス陽性と判定した。抗HTLV-1抗体陽性のATL患者と、HTLV-1キャリアーでHTLV-1プロウイルスのモノクロナールな組み込みのないNHL患者の治療前および治療後の血液からPBMCを単離し、その破砕液を鋳型として、限界希釈法により定量的PCRを行い、プロウイルスの量的変化を測定した。

〈結果〉

出産後直ちに処理した8匹の胎児の内、1匹の胎児の肝臓および脾臓から抽出したDNAにプロウイルスが検出された。フォスター・ナーシングした71匹の児ラットのうち2匹よりプロウイルスが検出された。出産後にMTT-2細胞を注入した親に授乳させた6匹にはすべてプロウイルスが検出された。

ATLの患者では化学療法後プロウイルスの量は減少したが、末梢血単核球から完全に消失することはなかった。HTLV-1キャリアーでHTLV-1プロウイルスのモノクロナールな組み込みのないNHL患者では治療後もプロウイルスの量に変化は認められなかった。

〈考察〉

HTLV-1はATL/Lを発症するとともに、HTLV-1関連瘰癧性対麻痺などのHTLV-1関連疾患とよばれる様々な疾患を起こす。その感染経路は輸血感染、母児感染、夫婦間感染であるが、輸血感染が遮断された現在では母児感染が主な感染経路である。母児感染経路のうち経母乳感染があることは明らかで、すでに授乳遮断による防止対策が実施されている。しかし、現実には、なお母子児感染による発症者があり、子宮内感染が疑われていた。本研究ではラットのモデルで低率ながら子宮内感染が成立していることを証明し、自然分娩・哺乳では高率に母児感染が成立することを示した。これは母児感染の予防対策を再考する必要があることを示唆しているとともに、このラットのモデルは子宮内感染の解析とその防止法の研究に有用であることを示している。

血液悪性疾患の化学療法の治療評価に微小残存腫瘍(MRD)のモニタリングを用いている。本研究ではHTLV-1プロウイルスを遺伝子マーカーとして用い、成人T細胞白血病/リンパ腫患者(ATL/L)の治療評価を試行した。適切な化学療法の後、臨床的に患者を寛解に導入でき、末梢血単核球のプロウイルス量は減少したが完全には消失しなかった。HTLV-1キャリアーで非ホジキン型悪性リンパ腫患者を発症した患者に化学療法を施し、末梢血単核球プロウイルス量を調べたが、プロウイルス量は微小していなかった。以上のことからATL/L患者ではそのプロウイルス量を定量することで、ある程度の治療効果の判定をすることができると考える。ただし、症例数がまだ少なく今後さらに検討を重ねる必要がある。

審 査 の 要 旨

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) の感染経路には授乳による感染以外に子宮内感染が疑われながら実験的に証明が困難であった。本研究ではラットのモデルを用いて子宮内感染が起こることを証明した。きわめて有意義な発見と証明であり、今後の予防・対策に大きな貢献をするものと高く評価できる。臨床的に治療効果を判定するためにプロウイルスを定量することを試みているが、この点はなお未完成で検討を続ける必要がある。しかし、基礎的な研究を臨床的に応用しようとする試みは高く評価でき、質の高い研究論文である。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。