

| | |
|---------|---|
| 氏名(本籍) | 小 ^こ 島 ^{じま} 寛 ^{ひろし} (三重県) |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 博甲第780号 |
| 学位授与年月日 | 平成2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 | EB virus 感染 B リンパ球による Lymphotoxin (LT) の産生 (dissertation 形式) |
| 主査 | 筑波大学教授 医学博士 三輪正直 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 大菅俊明 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 柏木平八郎 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 田村昇 |
| 副査 | 筑波大学助教授 医学博士 森尚義 |

論文の要旨

〈目的〉

EB virus は伝染性単核球症を起こす一方で、Burkitt リンパ腫の原因 virus としても知られている。EB virus 感染にともなう B リンパ腫発症のメカニズムは今日なお充分には解明されていないが、同 virus の感染にともない宿主のある特定の遺伝子が活性化されるという現象は、リンパ腫発症のメカニズムを考える上できわめて興味深い。一方で EB virus 感染 B リンパ球が何らかの細胞障害活性物質を産生することは比較的古くから知られていた。しかしながら EB virus 感染 B リンパ球の産生する細胞障害活性物質の本態に関しては、今日まで明らかにされていない。

本研究は、EB virus 感染 B リンパ球の産生する細胞障害活性物質を構造、機能の両面より明らかにし、さらに EB virus 感染と細胞障害活性物質産生との関連性を遺伝子レベルで解析することを目的とした。

〈方法〉

NK 細胞性白血病のリンパ末梢血球より樹立された EB virus 感染 B 細胞株 (CHIBA) の培養上清を材料とし、カラム操作によって L-929 マウス線維芽細胞を標的とした細胞障害活性物質の部分精製を行った。抗 lymphotoxin (LT) 抗体、抗 tumor necrosis factor (TNF) 抗体を用いる阻害実験および immunoblotting 化によって、部分精製された細胞障害活性物質の同定を行った。また細胞障害活性物質の作用機序を明らかにすることを目的として、標的細胞障害にともなう DNA 断裂化を検討した。DNA 断裂化は放射能で標識され核酸の遊離により測定した。EB virus 感染と LT 産生の因果関

係を明らかにするために、さらに他の EB virus 感染 B リンパ球および非感染 B 細胞株を材料とし、Southern blotting によって EB virus ゲノムを、Northern blotting によって LT の mRNA を検出した。

〈結果と考察〉

一連のカラム操作によって部分精製された標品の細胞障害活性は、抗 LT によってほぼ完全に阻害された。しかし抗 TNF 抗体によっては全く阻害されなかった。さらにこの細胞障害活性をもつ物質の分子量は、ゲル濾過にて 45-70KD、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にて還元下、非還元下ともに、20KD であった。また、この細胞障害活性物質は用量依存性に標的細胞の DNA 断裂化を起こした。以上の結果 EB virus 感染 B 細胞株 CHIBA より産生される細胞障害活性は LT によることが明らかになった。次に LT の細胞死を来す作用機序を明らかにするために LT による細胞障害と DNA 断裂化との関連を検討した。その結果 DNA 断裂化が標的細胞障害に先行して始まることが明らかになった。これは LT による細胞障害機構として、DNA の損傷が重要であることを強く示唆された。また 3 種類の EB virus 感染 B リンパ球および非感染 B 細胞株を用いて培養上清の LT 活性を測定したところ、EB virus 感染の B リンパ球の培養上清にのみ LT が検出された。さらに EB virus 感染と LT 産生の因果関係を明確にするために遺伝子レベルでの解析を行ったところ、EB virus ゲノムが検出される細胞においてのみ LT の mRNA が発現されていた。

以上の実験結果より、B リンパ球への EB virus の感染によって LT 産生が誘導されることが明らかになった。

審 査 の 要 旨

本研究は EB virus 感染 B リンパ球より産生される細胞障害活性物質が LT であることを、免疫学的、生化学的、遺伝的手法によって証明した点が新しいと言える。また Northern blotting, Southern blotting などの手法を用いて、EB virus 感染と LT 産生との関係を明確にした点も新しい知見として評価できる。さらに LT の作用機序として DNA の損傷の重要性を示唆したことは、DNA 障害性の放射線や、化学療法剤の作用機構と関連して興味深い知見であるといえる。

今回の研究は EB virus 感染にともない細胞側の LT 遺伝子が活性化されるという現象を明らかにしたものであり、EB virus 感染による B リンパ腫発症に関与する種々の細胞側の遺伝子活性化と関連し興味深い。今後さらに LT が *in vitro* のみでなく、いかなる生体反応に意味をもつかということに関して検討を要するものと考えられる。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格があるものとみとめる。