

氏名(国籍)	方 建 华 (中 国)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 甲 第 2,152 号
学位授与年月日	平 成 11 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Transmission of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 to Mice (ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型のマウスへの感染)
主 査	筑波大学教授 医学博士 中 内 啓 光
副 査	筑波大学教授 医学博士 山 本 雅 之
副 査	筑波大学教授 獣医学博士 八 神 健 一

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は成人 T 細胞白血病 (ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (HAM/TSP) などの原因ウイルスとして知られている。HTLV-1 感染から 40~50 年後、一部のキャリアが ATL の発症まで進展していく。しかし HTLV-1 キャリア状態から発症までの機序は、まだ不明な点が多く、動物モデル特にマウスモデルを用いた研究が有用であると考えられる。HTLV-1 はサル、ウサギ、ラットなどの実験動物に感染することが知られているが、マウス細胞への感染は *in vitro* においても確認されていない。培養細胞を用いた実験が必ずしも生体内におきた現象を反映するとは限らないと考え、本研究ではマウスに直接 HTLV-1 産生細胞を接種し、HTLV-1 のマウス固体への感染実験を試みた。

(方法)

C3/HeJ マウスにヒト HTLV-1 産生細胞 (MT-2) 2.5×10^6 個を生後 24 時間以内と 1 週間後の 2 回にわたって腹腔内に移植した。レシピエントマウスゲノム DNA から HTLV-1 プロウイルス pX、Gag 領域の有無を PCR-Southern hybridization にて検査した。pX 陽性のマウス由来の脾臓 DNA を用いて HTLV-1 プロウイルスの挿入部位を ligation mediated PCR (LM-PCR) 法で調べた。また PT-PCR により pX mRNA の検出、PA 法により HTLV-1 抗体測定を行った。感染した細胞のタイプを特定するため flow cytometry による解析を行った。

(結果)

MT-2 細胞を接種したマウスでは末梢血単核球における pX 及び Gag の検出率は 7 週齢マウスでそれぞれ 11 匹中 1 匹 (9%) と 10 匹中 3 匹 (30%)、11 週齢の 15 匹中それぞれ 3 匹 (20%) と 5 匹 (33%) であった。15 週齢の 11 匹のマウス中、pX 領域の検出率は 3 匹であった。全 18 匹マウス中、脾臓 (13 匹, 72%)、リンパ節 (12 匹, 67%) 及び胸腺 (9 匹, 50%) などの組織で pX の検出率が高い傾向が見られた。

MT-2 細胞を接種したすべてのマウスで、少なくともいずれかの組織 DNA から HTLV-1 プロウイルスが検出された。また脾臓 DNA 1 μ g 中約 10 コピーの HTLV-1 プロウイルスが存在することが示された。さらに、HTLV-1 のマウスへの感染の証拠として、マウス NO.51 の脾臓由来 DNA より HTLV-1 プロウイルスとともにマウス特異的な flanking sequence を同定した。全 18 匹マウス中抗 HTLV-1 抗体は検出されなかった。また組織学上の変化は認められなかった。

(考察)

MT-2 細胞の移植を受けたマウスの脾臓由来 DNA より HTLV-1 プロウイルスを検出し、マウスゲノムに HTLV-

1がintegrationしていることを見いだして、HTLV-1の Maus への感染の直接的証拠を初めて明らかにした。最近、培養細胞を用いた感染実験からも、Maus細胞に *in vitro* でHTLV-1を感染させることができるという報告があったが、これは、本研究で示された *in vivo* 結果と一致し、Maus細胞表面にもHTLV-1のレセプター/コレセプターが存在することを示唆している。HTLV-1の Maus 固体への感染系が確立されたことにより、今後は Maus を用いたHTLV-1感染の病態の解明が可能になると考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

レトロウイルスは後天性免疫不全症候群や成人型T細胞の白血病の原因病原体として注目されているが、動物モデル、とくに Maus 固体を用いた感染が困難であることが感染成立機構を解明する上での障害となっている。本論文において、筆者等はHTLV-1産生細胞を Maus 腹腔内に移植するという比較的簡単な方法を用いて Maus 個体にHTLV-1を感染させようことを分子生物学的な手法を交えて見事に証明している。今後のHTLV-1の感染成立機構の研究ならびに病態の解明に大きく貢献する優れた研究である。

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。