



Title	HTLV - Iキャリアー末梢血中のウイルスゲノムの解析
Author(s)	松本, 加代子
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39397">https://hdl.handle.net/11094/39397</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	まつもと かよ子 松 本 加 代 子
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 4 9 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 6 月 3 0 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	HTLV-Iキャリアー末梢血中のウイルスゲノムの解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 羽 倉 明 (副査) 教 授 栗 村 敬 教 授 上 田 重 晴

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

ヒトT細胞白血病ウイルス (HTLV-I) は、成人T細胞性白血病 (ATL) の原因ウイルスと考えられているが、ウイルス感染から発症までの期間は長く、また発症の頻度も低い。したがって、ATL の発症に関しては HTLV-I の感染に加え、キャリアー生体内での多段階の変化を要するものと考えられる。我々は、ATL の発症機序を明らかにすることを目的として、ウイルス感染から ATL 発症直前まで幅広く分布すると考えられる多数の HTLV-I キャリアーを詳細に調べることにした。その研究の過程で、末梢単核球 (PBMC) 中にかなりのコピー数の proviral genome が clonal に integrate されているにもかかわらず、異型リンパ球を認めず、血液所見全て正常のまま数年を経過しているキャリアー (S.H.) を見出した。S. H. において、何故悪性化を伴わず特定の PBMC が増加しているのか、すなわち ATL への悪性化停滞の機構を明らかにするため、種々の検討を行った。

### 【方法および成績】

HTLV-I proviral genome の検出 献血者より見出した306名の無症候性キャリアーを対象とした。PBMC より genomic DNA を抽出し、Pst I で処理した後、Southern blot 法を実施した。141名 (46%) が陽性であった。陽性者については、さらに EcoR I (HTLV-I genome 内を切断しない) で処理し、proviral genome の組み込まれ方を調べた。その結果、6例 (キャリアー全体の2%) について、clonal integration が認められ、うち2例 (S. H., A.W.) においては、1/5 コピー以上の proviral genome が認められた。A. W. は、異型リンパ球 (5-10%) が認められること、CD4+/CD8+ 比が高いことなどから、smoldering ATL と診断されたが、S. H. は、異型リンパ球を認めず、他の血液所見にも特に異常のないまま、約4年を経過している。このような臨床症状の違いをもたらす要因を明らかにするため、以下の検討を行った。PBMC の培養 両者の PBMC を PHA で刺激した後、rIL-2存在下で培養した。その結果、A. W. の PBMC は不死化したが、S. H. の PBMC は、抗体陰性者同様、培養開始後20日目あたりで増殖を停止した。培養中に産生された HTLV-I 関連蛋白について、Western blot 法で調べたところ、S.H. の場合、tax 産生については培養期間を通して確認されず、p19 の発現量も低かった。tax 遺伝子機能 S. H. の

PBMC に integrate された tax 遺伝子を, PCR 法より取り出して発現ベクターにつなぎ, 種々の細胞に導入して, その機能を調べた。S. H. の tax 遺伝子は, 十分な transactivation 活性を示すとともに, Rat-1 細胞および rat embryo fibroblast (REF) に対して, 十分な transformation 能, immortalization 能を示した。感染細胞の同定 S. H. の T細胞を, FACS による sorting で4分画し, Southern blot 法を実施した。その結果, CD4 + CD8- および CD4- CD8+ 細胞にも HTLV-I は感染していたが, clonal に integrate されているのは CD4 + CD8+ (DP) 細胞であった。同細胞は, 一般に, 胸腺皮質に認められ, 末梢血中には極僅か (0.1%程度) しか存在しないが, S. H. においては PBMC の10% を占める DP細胞が観察された。DP細胞の起源 FACS を用いた三色蛍光分析により DP細胞の表面マーカーを調べたところ, CD1-, CD2+, CD3+, CD45RA-, CD45RO+, CD25+, TCR $\alpha\beta$ +, TCR $\gamma\delta$ - であり, CD8に関しては,  $\alpha\alpha$ 型と  $\alpha\beta$ 型とがほぼ等量ずつ認められ, CD4の蛍光強度が前者で高く後者が低かった。したがって, CD4 + CD8- 細胞および CD4- CD8+ 細胞をそれぞれ起源とする, 二種の細胞で構成されていると考えられた。

#### 【総括】

HTLV-I キャリアー末梢血中のウイルスゲノムの解析の際に, 1/5 コピー以上の proviral genome が clonal に integrate されているにもかかわらず, 長期にわたり, 異型リンパを認めず, 他の血液所見も全て正常である S. H. 症例を見出した。この症例において, どのような機構で ATL への悪性化が停滞しているのかを検討し, ① S. H. の PBMC は, in vitro での培養中, tax 蛋白の発現が低く, 不死化しなかった。② S. H. に integrate されている tax 遺伝子の機能は正常であった, ③ S. H. の主たる感染細胞は CD4 + CD8+ 細胞であり, 健常人の100倍量に達していた, 等の結果を得た。すなわち, 感染細胞が特殊であり, ウイルス蛋白の発現が低いことなどが, 悪性化を抑えている要因の一つと考えられた。以上, これまでに報告のない, CD4 + CD8+ 細胞の clonal expansion を示す HTLV-I キャリアーを見出すとともに, 本症例を通して, 特定の感染細胞の増加から, ATL 発症までにはさらなる段階を経る必要があることを示唆するデータを示した。一方, 感染細胞 (CD4 + CD8+) の起源についての検討結果は, ウイルスによる T細胞の表面抗原獲得の観点からも大変興味ある結果であると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

成人 T細胞白血病 (ATL) は, 我国南西部に多発する極めて予後の悪い T細胞性の腫瘍である。血清学的, 並びに分子生物学的手法により, ヒト T細胞白血病ウイルス (HTLV-I) 感染が ATL の起因であることが明らかにされているが, 発症機構の詳細については不明な部分が多い。本研究は, 多数の HTLV-I キャリアーを解析することにより, ATL 発症のメカニズムを明らかにしようとしてなされたものである。約3万人の献血者集団から抽出された, 306名の無症候性キャリアーを対象として研究を行い, まず, 感染細胞が clonal に増殖しているキャリアーを6名見出した。そのうち1名はくすぶり型 ATL と診断されたが, S. H. 等の4名については, 異型リンパ球を有さず, 他の血液所見においても何ら異常を認めないことを明らかにした (残る1名は追跡調査協力が得られなかった)。これらの結果は, 感染細胞の clonal な増殖を悪性化の結果起こったものとして, くすぶり型 ATL 状態に含める従来の考えが必ずしも成り立たず, 特定の感染細胞の clonal な増殖から ATL 発症までにはさらなる段階を経る必要があることを示している。

さらに, S.H. 症例について詳細な検討を行い, 組み込まれたウイルスの tax 遺伝子機能は正常であるが, PBMC 培養時のウイルス蛋白の発現が低く, CD4 + CD8+ 細胞が clonal に増殖していること, 等を明らかにした。本研究は ATL 発症機構の解明に新しい知見を加えるものであり, 学位に値する業績と認める。