

氏 名（本籍） 福 留 健 司

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 2 5 3 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 2 月 24 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 59 年 3 月 27 日
九州大学理学部生物学科卒業

学 位 論 文 題 目 Strong Induction of ICAM-1 in Human T Cells
Transformed by Human T-Cell-Leukemia Virus
Type 1.
(HTLV-1 による ICAM-1 の発現誘導)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 今 野 多 助 教 授 菅 村 和 夫

教 授 帶 刀 益 夫

論文内容要旨

【目 的】

HTLV-1で形質転換したT細胞では、IL-2レセプターの α 鎖、MHCクラスII等の活性化抗原や、様々なサイトカインの発現誘導が起っている。我々はHTLV-1陽性細胞であるC91/PLに対して作製した単クローン抗体のうちHTLV-1陽性細胞と強く反応するC22がICAM-1を認識することを見いだした。ICAM-1はLFA-1のレセプターであり、LFA-1とICAM-1の相互作用は免疫系における細胞間相互作用において重要な働きをしていることが知られている。HTLV-1によるICAM-1の発現誘導の機構とICAM-1の発現誘導がHTLV-1陽性細胞の形質や機能に及ぼす影響を明らかにする目的で研究を行った。

【方法及び結果】

C91/PLの膜画分を抗原としてBALB/Cマウスを免疫し、常法に従ってハイブリドーマを作成した。この中から、HTLV-1細胞と強く反応する単クローン抗体C22を得た。この抗体が認識する抗原が細胞間接着因子の1つであるICAM-1であることを免疫沈降及びICAM-1の遺伝子を導入したNIH3T3細胞を用いたFACS解析により確認した。そこでHTLV-1陽性、陰性の様々なヒトT細胞株についてICAM-1とそのリガンドであるLFA-1の発現をFACS解析により検討した。用いたヒトT細胞株は16株で、その内訳はALL由来HTLV-1陰性T細胞株3種、臍帯血由来HTLV-1形質転換細胞株4種、末梢血由来HTLV-1形質転換細胞株3種、HTLV-1キャリア由来T細胞株2種、ATL患者由来白血病細胞株4種である。ICAM-1の発現はHTLV-1陰性のALL由来細胞株では低レベルであったが、ATL患者由来のMT-1を除くHTLV-1陽性細胞株では全て高レベルであった。LFA-1の発現はHTLV-1陰性の細胞株とHTLV-1陽性の細胞株では特に大きな差異は見られなかった。しかし、MT-1を除く残りのATL患者由来T細胞株3種(TL-OM1, H582, HUT102)ではLFA-1の発現は殆ど見られなかった。

さらに、ATL患者の末梢血についてもICAM-1及びLFA-1の発現を検討した。ICAM-1についてはATL患者の末梢血白血病細胞において発現誘導が見られた。しかし、ATL細胞株において見られたICAM-1あるいはLFA-1の発現抑制が実際に一部の末梢白血病細胞でも起っているのかどうかは確認できなかった。

ICAM-1のHTLV-1細胞での発現誘導は転写レベルであることが、ノーザン・ブロット解析により示された。そのメカニズムについて、まずサイトカインによるオートクラインについて検討した。HTLV-1陽性細胞はICAM-1の発現を誘導するIL-1 α 、TNF- α 、TNF- β 、IFN- γ 等を

産生することが知られているが、これらのサイトカインの産生量と ICAM-1 の発現の強さの間には相関は見られなかった。また、これらのサイトカインに対する抗体で持続的に処理しても HTLV-1 陽性細胞での ICAM-1 の発現が抑制されることはなかった。

次に、HTLV-1 の tax による転写活性化について検討した。メタロチオネインのプロモーターの下流に tax を組み込んだ遺伝子を導入してある Jurkat 細胞を用いて、tax が ICAM-1 の発現誘導に与える影響を検討した。CdCl₂ 添加による tax の誘導によって、ICAM-1 の発現が誘導された。

ICAM-1 の発現誘導が HTLV-1 の感染に関与している可能性を次に検討した。HTLV-1 陽性細胞は陰性細胞と共培養することで合胞体を形成することが知られている。この系において抗 ICAM-1、抗 LFA-1 抗体を添加したところ合胞体形成の抑制が見られた。

【考 察】

HTLV-1 陽性細胞株及び ATL 患者末梢血白血病細胞において ICAM-1 の発現誘導が見られた。ATL では高頻度にリンパ節腫脹、肝脾腫、皮膚浸潤などが観察されるが、これらの組織病変に ICAM-1 の異常な発現が関与している可能性が示唆される。

ATL 患者由来の細胞株において見られた ICAM-1 あるいは LFA-1 の発現抑制は ATL 患者末梢血の白血病細胞においては検出されなかった。これらの分子の発現が抑制されているような白血病細胞が ATL 患者の病変組織に存在するかどうかは更に検討する必要がある。HTLV-1 による ICAM-1 の発現誘導のメカニズムについては tax の関与が示唆された。また、HTLV-1 による合胞体形成に ICAM-1、LFA-1 の結合が関与している事が示唆された。

審査結果の要旨

成人 T 細胞白血病ウイルス (HTLV-1) はヒト T 細胞に感染してその不死化をもたらし、IL-2 レセプター、MHC クラス II 抗原などの活性化抗原の発現や種々のサイトカインの発現の誘導を起こす。この様な HTLV-1 陽性細胞の形質を解明する目的で、C91/PL 細胞株を免疫原として HTLV-1 に強く反応する単クローン抗体 C22 を作成し、それが細胞間接着分子 (ICAM-1) を特異的に認識することを同定した。さらに、HTLV-1 の感染や ATL 発病における細胞間相互作用の重要性の観点から HTLV-1 陽性細胞における ICAM-1 の発現誘導機序とその HTLV-1 陽性細胞の形質や機能におよぼす影響を解析した。その結果、次のような知見が得られた。

1. HTLV-1 陽性細胞と強く反応する単クローン抗体 C22 は免疫沈降反応や遺伝子導入細胞との反応性などから ICAM-1 を認識することが判明した。

2. HTLV-1 陽性細胞株のうち MT-1 を除き、調べたすべての細胞で ICAM-1 強陽性であった。これに対して、HTLV-1 陰性細胞株ではすべて ICAM-1 陰性であった。ICAM-1 レセプターである LFA-1 の発現は HTLV-1 の存在の有無に関係なかった。

3. ICAMmRNA の発現量は細胞表面の ICAM-1 発現量と相応した。すなわち、HTLV-1 陽性細胞での ICAM-1 mRNA 量が多く、HTLV-1 陰性細胞でのそれはごく少量であった。

4. ATL 患者末梢白血病細胞に ICAM-1 発現の誘導が認められた。

5. ICAM-1 の HTLV-1 陽性細胞における発現誘導は転写レベルであることが判明した。しかし、サイトカイン産生は ICAM-1 発現量とは相関しない。

6. HTLV-1 陽性細胞における ICAM-1 発現誘導機序に HTLV-1 の p40/tax の関与が示唆された。

7. HTLV-1 陽性細胞と陰性細胞との合胞細胞形成能は抗 ICAM-1 抗体と抗 LFA-1 抗体によって阻害され、ICAM-1 の発現が合胞細胞形成に関与することが示唆された。

以上の研究成績は HTLV-1 陽性細胞における ICAM-1 発現誘導とそのメカニズムを明らかにし、HTLV-1 の感染や ATL 発病機序との関連で興味ある知見をもたらした。よって学位論文に値するとみとめる。