

抗 IL-8 および抗 MCP-1 抗体の何れにおいても、単独であるいはこれらの組み合わせによって、神経細胞死を有意に抑制することが出来なかった (data not shown)。

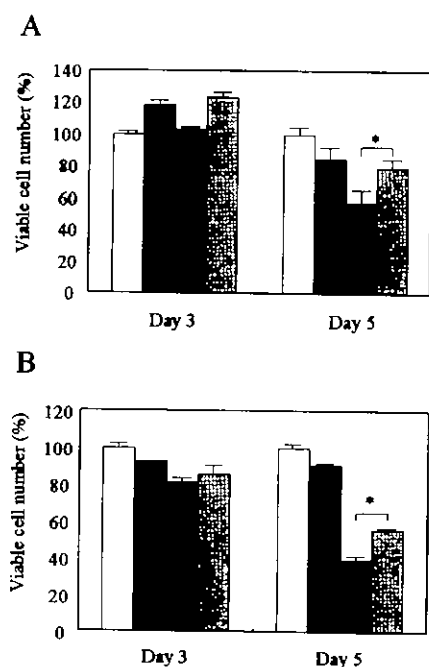


Fig. 5. (A) Inhibitory effect of AMD3100 on neural cell death. Neural cells were cultured alone (open columns), or indirectly cocultured with either uninfected macrophages (hatched columns) or HIV-1-infected macrophages (closed columns). In addition, neural cells were cocultured with infected macrophages in the presence of the CXCR4 antagonist AMD3100 at 1 μ M (dotted columns). After a 3- and 5-day cocultivation period, the number of viable cells was determined and expressed as the percent of the control (open columns). Results are the mean \pm the standard deviation of triplicate determinations; the statistical significance of viable cell number between the absence and presence of AMD3100 (closed and dotted columns, respectively) was evaluated by Student's *t* test. *, $P < 0.01$. **(B) Inhibitory effect of**

K-37 on neural cell death. Neural cells were cultured alone (open and hatched columns) or indirectly cocultured with HIV-1-infected macrophages (closed and dotted columns) in the absence (open and closed columns) or presence (hatched and dotted columns) of the HIV-1 transcription inhibitor K-37 at 1 μ M. After a 3- and 5-day cocultivation period, the culture supernatants were collected and assayed for their p24 antigen levels. The number of viable cells was also determined and expressed as the percent of the control (open columns). Results are the mean \pm the standard deviation of triplicate determinations for viable cell number and the mean of duplicate determinations for p24 antigen levels; the statistical significance of viable cell number between the absence and presence of K-37 (closed and dotted columns, respectively) was evaluated by Student's *t* test. *, $P < 0.01$.

次に HIV-1 抗原 (特に gp120) の神経細胞死に対する作用について調べるため、間接共培養の系に HIV-1 コレセプター CXCR4 に対する特異的阻害薬の AMD3100 もしくは HIV-1 転写阻害薬の K-37 を 1 μ M の濃度で添加し、それらの効果について検討した。その結果、AMD3100 は共培養 5 日目に感染マクロファージによって誘導される神経細胞死を有意に抑制することが分かった (図 5 A)。面白いことに、AMD3100 を添加した時の神経細胞の生存率は、AMD3100 を添加せず非感染マクロファージと共培養したときのそれとほぼ同じであるという結果になった。

一方、転写阻害剤の K-37 (1 μ M) は HIV-1 慢性感染マクロファージからのウイルスの産生を抑制することが既に知られており、本実験においても、

培養上清中の p24 量を 50% 減少させた (data not shown)。この条件において、図 5 B に示すように、K-37 も AMD3100 と同様に、共培養 5 日目に感染マクロファージによって誘導される神経細胞死を有意に抑制した。

D. 考察

本研究の目的は、生体内における HIV-1 による中枢神経細胞死の病因に基づいた *in vitro* における評価系の構築と、それをを用いた予防・治療薬の研究である。この目的でヒト脳細胞の初代培養を大量に用いることは、倫理的側面から不可能であり、また脳の初代培養細胞の感受性はドナーによってばらつきがあり、常に再現性のある結果を得ることが困難であると思われる。そこでわれわれは本研究において、ヒト神経芽種由来 SK-N-SH 細胞を神経細胞に、HIV-1 に慢性感染している骨髄芽球由来の細胞株の OM-10.1 細胞をマクロファージへと、それぞれ分化させ、これらを共培養するより神経細胞に細胞死 (アポトーシス) を誘導するような系を完成させた。

HIV-1 慢性感染細胞の選択に関しては、OM-10.1 細胞以外に、単球系の U937/III_B 細胞、T 細胞系の ACH-2 や MOLT-4/III_B 細胞などを用いて同様の実験を行ったが、U937/III_B 細胞はマクロファージに良く分化せず、また T 細胞系の細胞株は何れの細胞も、ウイルス抗原は良く産生するものの、神経細胞に明らかな細胞死を誘導することが出来なかった (data not shown)。事実、OM-10.1 細胞を用いた共培養においては、培養上清中に HIV-1 抗原のみならず、大量の炎症性サイトカインやケモカインが産生されていることが明らかとなり (表 1)、この系は HIV-1

感染者の中枢神経系で実際に起こっている出来事を比較的良く代表していると思われる。

残念ながら今回テストしたサイトカインおよびケモカインに対する中和抗体では神経細胞死が抑制できず、このことは神経細胞死を誘導する他の因子が存在することを示唆している。現在、これらの液性因子についてさらに検討中である。他方、CXCR4 拮抗薬の AMD3100 や HIV-1 転写阻害剤 K-37 が有意に神経細胞死を抑制したという結果 (図 5) から、HIV-1 抗原は神経細胞死に対して明らかに何らかの作用を及ぼしているようにみえる。特に K-37 は共培養の培養上清による神経細胞死を抑制することが出来ず (data not shown)、このことは K-37 の神経細胞死に対する抑制効果のメカニズムの 1 つとして、感染マクロファージからの HIV-1 抗原の産生を抑制するためであると考えられる。HIV-1 抗原については、gp120 に加えて、Tat や Nef などが神経細胞死に関与していると報告されており、今回確立した評価系を用いて、今後さらに詳細な検討を続けていく予定である。

E. 結論

今年度の本研究において、培養細胞株を分化誘導して得た、神経細胞と HIV-1 感染マクロファージを用いて、神経細胞に細胞死を誘導できる評価系を確立した。さらに、本評価系は HIV-1 による中枢神経障害の発症機序の解明や、それを予防・治療する新規薬剤の開発研究にも非常に有用であると思われ、現在はこれを用いて有効な薬剤の同定を積極的に進めている。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Baba M. Cellular factors as targets for anti-human immunodeficiency virus therapy. In: De Clercq E (Ed), *Antiviral Therapy*, pp. 191-217, ASM Press, Wasngton, DC (2001)
 2. Sawada H, Tamada D, Kawase T, Hayakawa Y, Lee K, Kyokane J, Baba M. Synthesis and properties of novel fluoroalkyl end-capped oligomers containing phosphorous segments. *J. Appl. Polym. Sci.* **79**:228-245 (2001)
 3. Fujii R, Okamoto M, Aratani S, Oishi T, Ohshima T, Taira K, Baba M. Fukamizu A, Nakajima T. A role of RNA helicase A in *cis*-acting transactivation response element-mediated transcriptional regulation of human immunodeficiency virus type 1. *J. Biol. Chem.* **276**:5445-5451 (2001)
 4. Konda Y, Takahashi Y, Arima S, Sato N, Takeda K, Dobashi K, Baba M. Harigaya Y. First total synthesis of Mer-N5075A and a diastereomeric mixture of alpha and beta-MAPI, new HIV-1 protease inhibitors from a species of Streptomyces. *Tetrahedron* **57**:4311-4321 (2001)
 5. Okamoto M, Ono M, Baba M. Suppression of cytokine production and neural cell death by the anti-inflammatory alkaloid cepharanthine: a potential agent against HIV-1 encephalopathy. *Biochem. Pharmacol.* **62**:747-753 (2001)
 6. Nitanda T, Wang X, Somekawa K, Yuasa S, Baba M. Three-drug combinations of emivirine and nucleoside reverse transcriptase inhibitors in vitro: Long-term culture of HIV-1-infected cells and breakthrough viruses. *Antiviral Chem. Chemother.* **12**:161-167 (2001)
 7. Takashima K, Miyake H, Furuta RA, Fujisawa J, Iizawa Y, Kanzaki N, Shiraishi M, Okonogi K, Baba M. Inhibitory effects of small-molecule CCR5 antagonists on human immunodeficiency virus type 1 envelope-mediated membrane fusion and viral replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**:3538-3543 (2001)
 8. Baba M. Okamoto M, Kashiwaba N, Ono M. Anti-HIV-1 activity and structure-activity relationship of cepharanoline derivatives in chronically infected cells. *Antiviral Chem. Chemother.* **12**:307-312 (2001)
 9. Makino M, Utsunomiya A, Maeda Y, Shimokubo S, Izumo S, Baba M. Association of CD40 ligand expression on HTLV-I-infected T cells and maturation of dendritic cells. *Scand. J. Immunol.* **54**:574-581 (2001)
 10. Kawamura M, Naito T, Ueno M, Akagi T, Hiraishi K, Takai I, Makino M, Serizawa T, Sugimura K, Akashi M, Baba M. Induction of mucosal IgA following intravaginal administration of inactivated HIV-1- capturing nanospheres in mice. *J. Med. Virol.* **66**:291-298 (2002)
2. 学会発表 (招待講演・シンポジウムのみ)
1. 馬場昌範. 抗 HIV 薬基礎研究の現状と新しい標的を求めて. 文部科学省特定領域研究「エイズ制御の

ための基礎研究」公開シンポジウム。京都（2002）

G. 知的所有権の取得状況

今回は特許出願等なし。

Table 1. Cytokine and chemokine levels in coculture supernatants^a

	TNF- α (ng/ml)	IL-1 β (ng/ml)	IL-6 (ng/ml)	IL-8 (ng/ml)	MCP-1 (ng/ml)	RANTES (ng/ml)	p24 (ng/ml)
<u>Day 3</u>							
SK-N-SH alone	<0.01	<0.05	<1	<1	<10	<1	ND
HL-60 alone	0.48 \pm 0.03	<0.05	1 \pm 0	33 \pm 2	10 \pm 4	1.8 \pm 0.4	ND
OM-10.1 alone	0.42 \pm 0.09	0.20 \pm 0.01	1 \pm 0	51 \pm 16	33 \pm 0	5.8 \pm 2.5	5.3 \pm 1.8
(Direct coculture)							
SK-N-SH + HL-60	<0.01	<0.05	5 \pm 0	23 \pm 5	275 \pm 77	1.2 \pm 0.1	ND
SK-N-SH + OM-10.1	<0.01	0.07 \pm 0.01	29 \pm 8	98 \pm 18	301 \pm 5	3.8 \pm 0.1	4.6 \pm 0.1
(Indirect coculture)							
SK-N-SH + HL-60	0.15 \pm 0.00	<0.05	26 \pm 5	90 \pm 28	440 \pm 46	5.4 \pm 0.1	ND
SK-N-SH + OM-10.1	0.19 \pm 0.13	0.68 \pm 0.20	112 \pm 0	251 \pm 96	450 \pm 22	5.6 \pm 0.4	4.0 \pm 0.5
<u>Day 5</u>							
SK-N-SH alone	<0.01	<0.05	<1	<1	<10	<1	ND
HL-60 alone	0.35 \pm 0.12	<0.05	<1	64 \pm 9	<10	1.2 \pm 0.2	ND
OM-10.1 alone	0.78 \pm 0.05	0.20 \pm 0.05	<1	166 \pm 17	26 \pm 4	8.6 \pm 0.1	5.2 \pm 1.2
(Direct coculture)							
SK-N-SH + HL-60	<0.01	<0.05	16 \pm 1	49 \pm 7	171 \pm 10	<1	ND
SK-N-SH + OM-10.1	<0.01	0.07 \pm 0.01	38 \pm 0	272 \pm 76	272 \pm 10	2.8 \pm 0.2	3.8 \pm 0.1
(Indirect coculture)							
SK-N-SH	<0.01	<0.05	<1	<1	<10	<1	ND
SK-N-SH + HL-60	0.07 \pm 0.00	<0.05	20 \pm 5	92 \pm 1	489 \pm 37	3.5 \pm 0.0	ND
SK-N-SH + OM-10.1	0.05 \pm 0.00	0.26 \pm 0.12	76 \pm 5	351 \pm 1	363 \pm 26	6.8 \pm 0.4	5.7 \pm 0.8

^aCytokine, chemokine, and HIV-1 p24 antigen levels were determined by ELISA. Except for p24 antigen levels, all data represent means \pm ranges in duplicate samples. p24 antigen levels represents means \pm standard deviations for triplicate determinations. ND: not determined.

厚生科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV 等レトロウイルスによる痴呆や神経障害の病態と治療に関する研究

HIV 感染細胞が産生する神経細胞致死誘導因子

分担研究者 高宗暢暁 熊本大学薬学部助手

研究要旨： HIV-1 感染細胞が起因となるヒト由来培養神経細胞 (SK-N-SH) の細胞死誘導について検討した。神経特異的な細胞死は、ウイルス液刺激後、4 日目に誘導された。本神経細胞死には、これまで報告されている gp120 と CXCR4 の相互作用が神経細胞死誘導のトリガーとなる機構の他に、別の誘導機構も関与していることが示唆された。

A. 研究目的

現在考えられている、HIV-1 が起因する神経障害の誘導のモデルは、HIV-1 によって感染、刺激を受けたマクロファージ、マイクログリアが産生するニューロトキシン、およびアストロサイトを媒介した神経障害が考えられている。また一方で gp120, gp41, tat, nef vpr などウイルス性タンパク質による直接的な神経障害の機構もまた提案されている。

このようなことから、HIV 脳症の治療戦略として、NMDAR blocker、ケモカインレセプター、サイトカインレセプターアンタゴニスト、MAPK, CASPASE 阻害剤、抗酸化剤などが考えられている。

しかしながら、HIV 脳症発症のメカニズムについては十分に理解されているとはいえず、HIV が起因となる神経障害に関連する分子群を探索し、同定することは、その

治療戦略を構築する上で非常に重要な研究課題であると考えられる。本研究では、HIV-1 感染細胞が産生するウイルスの直接的な刺激によって誘導される神経細胞死を検証した。

B. 研究方法

ヒト神経芽細胞種 SK-N-SH 細胞に 5 μ M の all trans retinoic acid を処理し分化誘導して得られた神経細胞、ヒト T 細胞株 MT-4、及びヒト glioblastoma, T98G を標的細胞として使用した。

CXCR4 を利用する HIV-1 X4 (LAV-1) が持続感染している CEM/LAV-1 細胞の培養上清を回収しウイルス液とした。得られたウイルス液は、dextran sulfate, CXCR4 antagonist (Z-8), 抗 gp120 抗体 (0.5beta) 存在下、100,000 x g 遠心し PBS(-) で洗浄後再度 100,000 x g 遠心処理、または、加熱処

理 (60°C、30 分) し、分化誘導した SK-N-SH 細胞に接種 (10~1000 倍希釈) した。

ウイルス処理した神経細胞の viability と細胞死誘導の評価を MTT assay, およびアガロースゲル電気泳動後エチジウムブロマイド染色による DNA ラダーの検出をにより行った。

(倫理面への配慮)

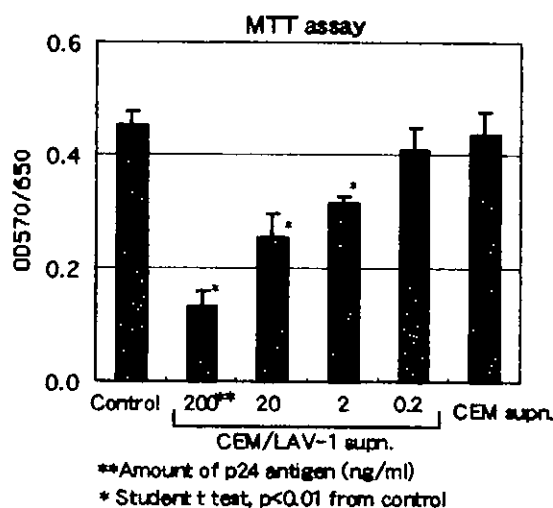
本研究においては、動物実験を行わず、株化培養細胞を使用していることから、倫理面の問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

ウイルス液を処理し 5 日目の神経細胞の viability を MTT assay によって評価した結果、ウイルス液投与量依存的に著しい細胞生存率の低下が認められ、ウイルス液 10 倍希釈で生存率がおよそ 30% に低下した。

(Figure 1)。対照実験として、非感染 CEM 細胞の培養上清を使用した結果、未処理の

Figure 1. ウイルス液のSK-N-SH生存に与える影響

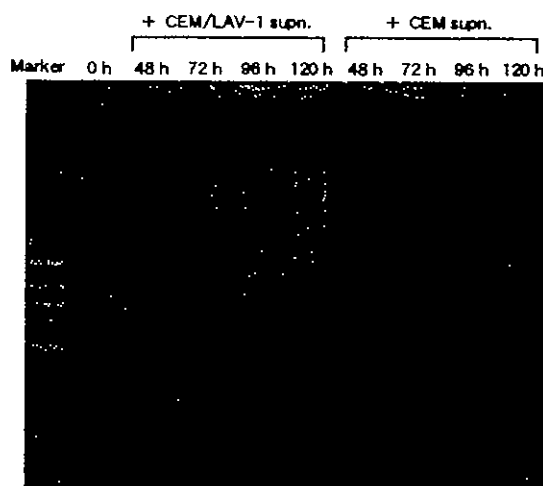


場合と同等の生存率であった (Figure 1)。

ウイルス液を神経細胞に接種し、経日的に細胞を回収し断片化 DNA を検出した結果、感染細胞依存的に、接種後 4 日目に DNA のラダーが検出され始めた (Figure 2)。ヒト glioblastoma, T98G に対しては、同じ条件でウイルス液を接種しても細胞死及び生存率の低下は観察されなかった (data not shown)。

以上の結果から、この HIV 感染細胞依存的、神経細胞特異的細胞死の誘導が、観察され、その細胞死誘導までにはウイルス液刺激後、4 日の時間が必要とされることが示された。

Figure 2. ウイルス液処理SK-N-SH細胞における断片化DNAの検出



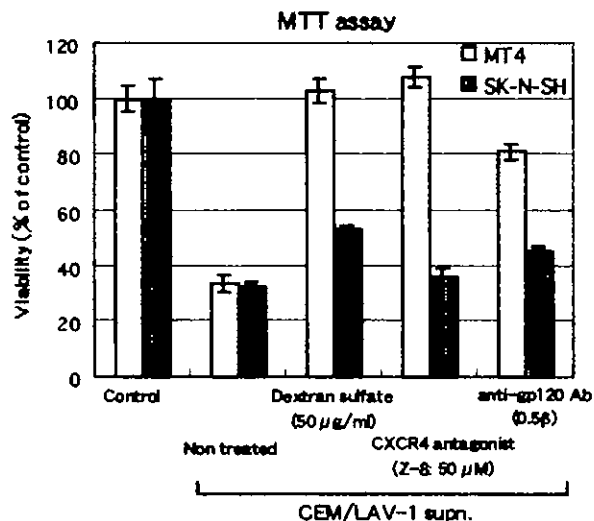
この条件で誘導される神経細胞死が、gp120 あるいは CXCR4 に結合し HIV-1 の感染をブロックするインヒビター (dextran sulfate, CXCR4 antagonist (Z-8), 抗 gp120 抗体 (0.5beta)) によって阻害されるかを MTT assay で評価し検討した。その結果、これらいずれのインヒビターによっても、ウイルス液接種による神経細胞の生存率の低下の抑制効果は、部分的に認められるにとどまった (Figure 3)。上述の実験と平行して、

同じウイルス液量および同じ濃度の各種インヒビターを MT-4 細胞に処理し、その生存率を調べた結果、HIV-1 感染によって誘導される細胞変性効果による生存率の低下が効果的に抑制された (Figure 3)。

使用したウイルス液中に含まれるウイルス粒子以外の可溶性成分を除去する目的で、ウイルス液を超遠心処理し、得られたペレットを神経細胞に接種した。その結果、超遠心未処理のウイルス液と同じレベルの断片化 DNA が検出された (data not shown)。

この細胞死誘導活性は、ウイルス液を加熱処理することで消失した (data not shown)。

Figure 3. 各種 HIV-1 吸着・侵入阻害剤のウイルス液誘導 SK-N-SH 細胞死に与える効果



D. 考察

現在までに、HIV-1 ウイルス粒子のダイレクトな刺激による神経細胞死誘導のトリガーとして、gp120 と CXCR4 の相互作用に関する報告がもっとも多い。今回使用した神経細胞にも CXCR4 が発現していることから (data not shown)、本実験系にて誘

導される神経細胞死もまた、gp120 と CXCR4 との相互作用がトリガーとなる細胞死であること予想された。そこで、gp120 と CXCR4 の相互作用をブロックする阻害剤による細胞死抑制効果を調べた結果、部分的な抑制効果のみであった。このことから、gp120 と CXCR4 の相互作用の他に、強力な細胞死を誘導するトリガー分子がウイルス液側に存在することが予想された。この系において、ウイルス複製は起っていないことが確認されたことから、ウイルス感染に伴う細胞変性効果による細胞死ではないことが示唆された。また、ウイルス液を超遠心処理して得られたペレットを処理しても神経細胞死を誘導したことから、ウイルス液中に含まれるウイルス粒子の刺激による細胞死であることが示唆された。

また、本実験系における神経細胞死の特徴として、ウイルス液刺激後、4日目によく細胞死が誘導されることである。

現時点では、本実験系における神経細胞死の誘導機構は不明であるが、HIV-1 感染細胞が関与する神経細胞死として、これまでに報告例のない特徴を示している。ウイルス側の細胞死トリガー分子としてウイルスエンベロップに取込まれている宿主性タンパク質等の可能性が考えられる。一方、神経細胞側において、ウイルス液刺激後細胞死が誘導されるまで、細胞内では動的な変化が起こっていることが予想される。本実験系において、神経細胞死に関連するさまざまな分子群が見いだされる可能性がある

る。そのような、分子群は、プロテオーム解析法などを利用して網羅的に解析することによって探索し同定できるのではないかと考えられる。新たな関連分子群が見いだされれば、HIV 脳症治療薬開発に大きな貢献をもたらすものと期待される。

E. 結論

HIV-1 感染細胞は分化誘導させた SK-N-SH 細胞に対して細胞死を誘導し、ウイルスによる gp120-CXCR4 相互作用のトリガー以外の誘導機構の存在が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

I. 論文発表

Acid-labile formylation of amino terminal proline of human immunodeficiency virus type 1 p24gag was found by proteomics.

Takashi Fuchigami, Shogo Misumi, Nobutoki Takamune, Ichiro Takahashi, Michiho Takama, and Shozo Shoji. submitted.

II. 学会発表

1. HIV1-による神経細胞死の誘導に関する検討

高宗暢暁, 三隅将吾, 庄司省三, 生化学, 73,

1034 (2001)

2. Proteome analysis: Mass spectrometric characterization of proteins inside purified HIV-1 particle

Takashi Fuchigami, Shogo Misumi, Nobutoki Takamune, Shozo Shoji. 2nd AIDS seminar in Kumamoto, September 20-21, 2001 Abstract 32

3. 精製 HIV-1 粒子内の細胞・ウイルス由来タンパク質のプロテオーム解析

瀧上貴司, 三隅将吾, 高宗暢暁, 庄司省三, 生化学, 73, 1033 (2001)

4. 精製 HIV-1 粒子のプロテオームプロファイリング

三隅将吾, 瀧上貴司, 高宗暢暁, 高橋一郎, 高間みちほ, 庄司省三, 第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会抄録集, 203 (2001)

3. Proteomics による HIV-1 ウイルス粒子内タンパク質の解明

瀧上貴司, 三隅将吾, 高宗暢暁, 庄司省三, 第 15 回日本エイズ学会学術集会・総会抄録集 317 (2001)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし

分担研究報告書

HTLV-I ウイルス量と HAM 発症関連宿主要因の影響について

分担者研究者 宇宿功市郎 鹿児島大学医学部医療情報管理学
研究協力者 斉藤峰輝、古川良尚、松元 渉、児玉大介、納 光弘 同 第3内科
竹之内徳博、出雲周二 同 難治性ウイルス疾患研・分子病理

研究要旨：HAM 発症に関わる宿主要因の HLA-A*02、Cw*08 が発症抑制に、HLA-DRB1*0101、B*5401 が発症促進に作用しているが、ROC 曲線からは、HTLV-I ウイルス量 2%で、感度 80%以上、特異度 80%以上で HAM 群とキャリア群を区別できることが明らかとなり、HTLV-I ウイルス量がより低い群で関連する因子(HLA-A*02、DRB1*0101)、より高い群で関連する因子(HLA-B*5401)が存在することを示した。重回帰分析から今回の集団の 80%において、HAM もしくはキャリアの予想が可能であった。

A. 研究目的

我々のこれまでの検討から、HAM は HTLV-I 感染者の 1%前後に発症し、個体内の HTLV-I ウイルス量は HTLV-I 感染未発症者(キャリア)の 7～16倍に増加していること、このウイルス量は HAM 発症者家族のキャリアにおいても家族歴のないキャリアより高いこと、感染ウイルス量が末梢血リンパ球の 1%以上になると HAM 発症の危険率が等比級数的に上昇することがわかってきている。これらに加えて HAM 発症には宿主側の要因として、HLA-A*02、Cw*08、HLA-DRB1*0101、B*5401 が明らかとなり、前2者は発症抑制に、後2者は発症促進に作用している。今回は HTLV-I ウイルス量と、これら因子と HAM 発症の関連について検討を行った。あわせて HTLV-I ウイルス量から見た HAM 発症の危険因子についての検討を加え発症予測がどの程度可能かについても検討した。

B. 研究方法

HAM 224 例、HTLV-I キャリア 202 名を対象として、HTLV-I プロウイルス定量を行った。ウイルス定量は、既報の Prism7700 を用いた定量的 PCR 法により行っている。宿主要因としては、HLA タイピングを行い、これまでに報告されている DNA タイピング法で行った。これらの宿主要因の解析と平

行して、ウイルス側の要因としては、HTLV-I Tax のサブタイプを解析した。

また HAM 発症の危険率はこれまでの検討から HTLV-I ウイルス量で異なっているが、HAM とキャリアを区別できる可能性のある HTLV-I ウイルス量についてはこれまでに検討はあまりみられていない。このことを解決するために、0.5%ごとに HAM 発症数、HTLV-I キャリア数を算出し、ROC 曲線を描画後に、cut off 値を算出した。その値で HAM 群、キャリア群を各々 2 群に分け、前記の要因の HAM 発症への関与を検討した。以上の検討に加えてこれらの要因を使い、重回帰分析を行い、HAM 発症予測の可能性を検討した。

C. 研究結果

ROC 曲線からは、HTLV-I ウイルス量 2%で、感度 80%以上、特異度 80%以上で HAM 群とキャリア群を区別できることが明らかとなった(図)。HLA-DRB1*0101 は、HAM 群でキャリア群より高頻度に見られた($\chi^2=4.45$, Odds ratio 1.80 95% C.I. 1.04-3.11, $p=0.03$)が、この傾向は、HTLV-I ウイルス量 2%以下の HAM 群で強く見られ($\chi^2=4.18$, Odds ratio 2.4 95% C.I. 1.02-5.67, $p=0.04$)、2%以上群では認められなかった(表 1a)。HLA-A*02 は、HAM 群でキャリア群より有意に頻

度が低く($\chi^2=17.12$, Odds ratio 0.44 95% C.I. 0.29-0.65, $p=3 \times 10^{-6}$)、これは HTLV-I ウイルス量 2%以下群で顕著であった($\chi^2=6.73$, Odds ratio 0.39 95% C.I. 0.19-0.81, $p=0.008$)。2%以上群ではこの関係は認められなかった(表 1b)。

HLA-B*54 では、HAM 群で有意に頻度が高く($\chi^2=12.46$, Odds ratio 2.43 95% C.I. 1.47-2.00, $p=0.0004$)、この傾向は、HTLV-I ウイルス量 2%以上の HAM 群で強く見られ($\chi^2=8.45$, Odds ratio 7.5 95% C.I. 1.74-32.30, $p=0.003$)、2%以下群では認められなかった(表 1c)。また、HAM 発症の予測が可能かを解析したわけであるが、要因の有無をダミー変数に置き換え、重回帰分析を行った。これにより、今回の集団の 80%において、HAM もしくはキャリアの予想が可能であった(表 2.)。

D. 考察

今回の検討では、HTLV-I ウイルス量がより低い群に関連する因子(HLA-A*02, DRB1*0101)、より高い群に関連する因子(HLA-B*5401)が存在することが示されたわけであるが、免疫応答の段階で関与するものか、連鎖する他の要因に関与しているものか、今後の更なる解析の必要性が指摘された。また、要因の有無をダミー変数に置き換えた重回帰分析では、今回の集団の 80%において予測が可能であったわけで、HLA 以外の宿主因子の解析を加え、より精度の高い予測が出来るものと考えられた。

E. 結論

以上のように HTLV-I 感染後の状態は、宿主の要因、ウイルス側の要因によるわけであるが、今回よりウイルス量の高い群で、発症に関連する危険因子が明らかとなったことは極めて興味深い。このことは HAM 発症に関する HTLV-I ウイルス量に閾値があることを示唆しており、これまでの末梢血リンパ球の 1%以上に HTLV-I ウイルスが感染すると等比級数的に HAM 発症の危険率が増すことに対応していると考えられた。

F. 健康危険情報
特に該当しない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsuzaki T, Nakagawa M, Nagai M, Usuku K, Higuchi I, Arimura K, Kubota H, Izumo S, Akiba S, Osame M. HTLV-I proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: analysis of 239 HAM/TSP patients including 64 patients followed up for 10 years. *J Neurovirol.* 2001 7(3):228-234.
- 2) Wodarz D, Hall SE, Usuku K, Osame M, Ogg GS, McMichael AJ, Nowak MA, Bangham CR. Cytotoxic T-cell abundance and virus load in human immunodeficiency virus type 1 and human T-cell leukaemia virus type 1. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 2001 268(1473):1215-1221.
- 3) Saito M, Taylor GP, Saito A, Furukawa Y, Usuku K, Weber JN, Osame M, Bangham CR. In vivo selection of T-cell receptor junctional region sequences by HLA-A2 human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax11-19 peptide complexes. *J Virol.* 2001 75(2):1065-1071

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

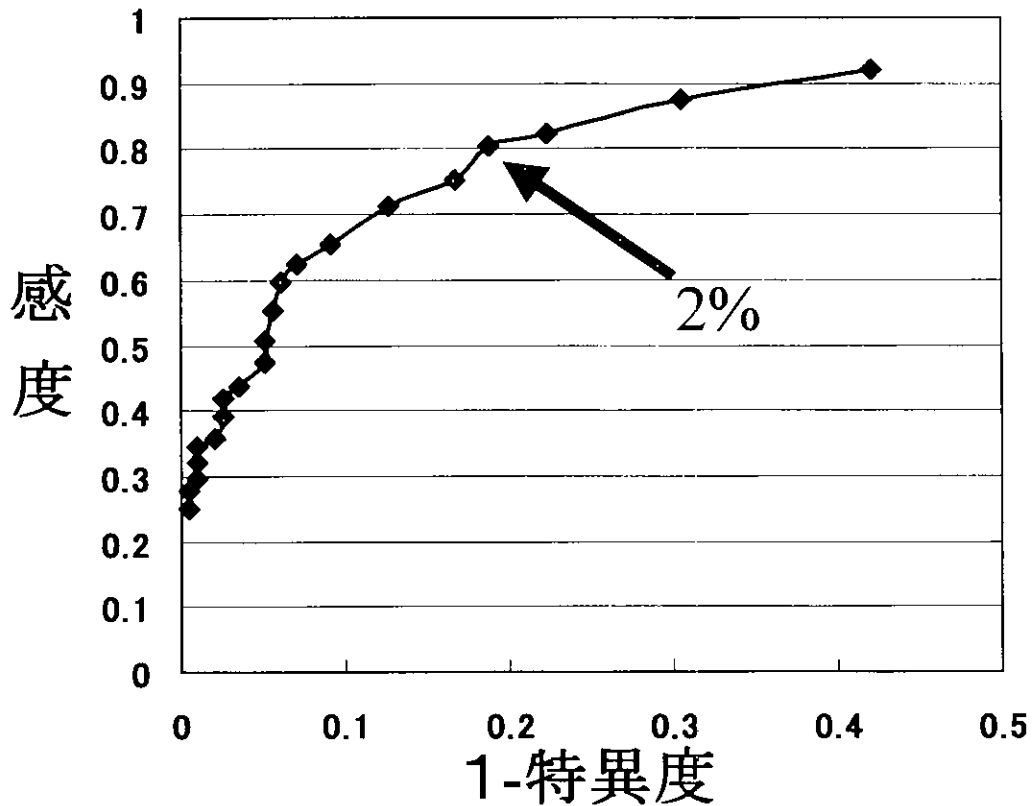


図. : HTLV-I プロウイルス量 ROC 曲線
HTLV-I プロウイルス量 0.5%毎の HAM 患者である感度と特異度より曲線を描いた。

表 1a.

HLA-DRB1*0101

HAM 群 vs キャリア群;	χ^2	Odds ratio	95%C.I.	p
Total	4.45	1.80	1.04-3.11	0.03
Viral Load < 2%	4.18	2.4	1.02-5.67	0.04
≥ 2%	0.32	1.34	0.48-3.17	0.74

表 1b.

HLA-A*02

HAM 群 vs キャリア群;	χ^2	Odds ratio	95%C.I.	p
Total	17.12	0.44	0.29-0.65	3×10^{-5}
Viral Load < 2%	6.73	0.39	0.19-0.81	0.008
≥ 2%	2.24	0.58	0.48-3.17	0.13

表 1c.

HLA-B*54

HAM 群 vs キャリア群;	χ^2	Odds ratio	95%C.I.	p
Total	12.46	2.43	1.47-4.00	0.0004
Viral Load < 2%	0.012	1.06	0.43-2.64	0.91
≥ 2%	8.45	7.5	1.74-32.30	0.003

表 2.

HAM 発症の予測が可能かを解析した。要因の有無をダミー変数に置き換え、重回帰分析を行った。下記の結果が得られている。これにより、今回の集団の 80%において、HAMもしくはキャリアの予想が可能であった (HAM 75%、carrier 87%)。

	回帰係数	標準誤差	t値	P値	95%下限	95%上限
定数項	-0.70587	0.090514	-7.79852	5.04357E-14	-0.88379	-0.52795
Sex	-0.14201	0.083242	-1.70596	0.088758672	-0.30563	0.021618
TaxSquare	0.043319	0.003023	14.32805	3.67559E-38	0.037376	0.049261
DR1	0.26867	0.110956	2.421422	0.015884715	0.05057	0.486771
TaxSubtype	0.352466	0.136216	2.587544	0.010002803	0.084712	0.62022
A2	-0.16283	0.08441	-1.92908	0.054397087	-0.32876	0.003087
B54	0.146665	0.099938	1.467551	0.142978199	-0.04978	0.343109
Cw8	-0.05793	0.111578	-0.51923	0.603876524	-0.27726	0.16139

(TaxSquare:HTLV-I プロウイルス量の平方根、TaxSubtype:HTLV-Itax のサブタイプ。)

厚生科学研究費補助金 (エイズ対策研究事業)
分担研究報告書

HTLV-I キャリアーにおける HTLV-I 関連症状

分担研究者 納 光弘 鹿児島大学第 3 内科
共同研究者 古川 良尚 鹿児島大学第 3 内科

研究要旨: HTLV-I 陽性献血ドナーの臨床症状及び検査所見を調べた。下肢深部腱反射亢進を伴う献血ドナーではリンパ球の CD4/8 比が低く何らかの免疫学的異常があり、HTLV-I 感染との関連が示唆された。また献血ドナーにおいても HTLV-I *tax* の subgroup によって HTLV-I 関連の症状(下肢深部腱反射亢進、夜間頻尿)のみられる頻度が異なり、*tax* A subgroup がこれらの症状のリスクである事が示唆された。

A. 研究目的

昨年 HTLV-I は LTR だけでなく *tax* でも subgroup 分類できる事、*tax* での subgroup で HAM 発症のリスクが異なる事を報告した。今回は、自覚症状のない日赤献血ドナーでの HTLV-I 感染者において HTLV-I 関連症状疾患・検査所見を検討し、併せて HTLV-I subgroup により、pre-clinical な所見のみられる頻度に差があるか等を検討した。また *tax* subgroup による HAM 発症のリスクの差の原因を知る目的で *tax* A, *tax* B HTLV-I に感染している HAM 患者で感染細胞当たりの Tax 蛋白を発現している細胞の割合、および Tax 発現細胞での IFN- γ 産生に差があるかを検討した。

B. 研究対象・方法

対象は日赤にて献血後 HTLV-I 陽性であることを通知され、1999 年 5 月 19 日から 2001 年 6 月 30 日までに鹿児島大学第 3 内科を受診した 128 例のうち Informed consent の得られた 111 例で平均 45 才。家族歴・既往歴を聴取し、腱反射、病的反射の有無、一日尿回数、夜間尿回数、末梢血白血球数、異常リンパ球の鏡検、CD4, CD8, LDH などを調べた。HTLV-I provirus 量、HTLV-I *tax* subgroup についても調べた。また HTLV-I *tax* subgroup による HAM 発症リスクの違いが Tax の機能の差によるものなのかを調べるために、HTLV-I 感染細胞当たりの Tax の発現細胞数の違

いを Tax A, Tax B でまた Tax 発現細胞での IFN- γ , TNF- α 産生の違いを Tax A と Tax B で調べてみた。*tax* A HTLV-I に感染している HAM 患者 10 人および *tax* B HTLV-I に感染している HAM 患者 10 人について PBMC を Brefeldin A 存在下に 12 時間培養した後細胞を固定し permeabilize して、細胞内 Tax とサイトカインを染め (Tax については LT-4 にて、サイトカインについては IFN- γ , TNF- α) flowcytometry で解析した。

C. 研究結果

1. HTLV-I 家族歴と検査所見について。
プロウイルス量の分布を図 1 に示す。全症例の Median provirus 量は 0.87% (感染細胞 1 個あたり 1 copy のプロウイルスを持つとして 10 万個の PBMC 中 87 個が感染している)であった。本キャリアー外来は日赤からキャリアーである事の通知を受けたもののうち、一部が受診したもので、特に ATL などの家族歴があるものはより受診する可能性があるため家族歴の有無と検査結果を調べた(表 1)。
ATL の家族歴があるもの 10 例、HAM の家族歴があるもの 2 例、うち 1 名は父が ATL と母が HAM の家族歴があった。また ATL かどうかわからないものの悪性リンパ種や白血病の家族歴があるものを 7 例認めた。これらの家族歴があるものの検査所見では白血球数、リンパ球数、

CD4, CD8, などには全体と比べて有意な差を認めなかった。プロウイルス量に関してはATLの家族歴のあるものは median provirus は 3.07%と全体 0.87%に比べて多い傾向を認めた。HAMの家族歴のあるものの median provirus 量は 8.57%と多い傾向を認めたが症例数が 2 例で統計的な意味づけはできなかった。以前我々はHAMばかりでなく HAM の家族でもプロウイルスが増えていることを報告しており、ATL の家族でもそのような傾向を見たことはプロウイルスの増殖に genetic な back ground が存在していることを示唆する所見と考えた。

2. HTLV-I キャリアーにおける HTLV-I 関連疾患症状について。(表 2)

異常リンパ球を 5%以上認めサザンプロットで monoclonal な増殖を認め ATL と診断した症例が 3 例(リンパ節腫大などなし)、既往にブドウ膜炎のある症例が 4 例、下肢の深部腱反射亢進を認める症例を 7 例、夜間の頻尿を認める症例を 3 例(このうち 1 例は下肢の深部反射も亢進)認め、このような HTLV-I に関連すると思われる症状や疾患のないものを 95 例認めた。ATL と診断された症例では白血球数、リンパ球%, CD4, の有意な増加、CD8 の有意な低下、CD4/8 比の有意な上昇を認め、プロウイルス量は 18.71%と増えていた。ぶどう膜炎の既往のあるキャリアーでは白血球数、リンパ球%, CD4, CD8 には一定の傾向を認めなかったが、プロウイルス量は 2.01%と多い傾向を認めた。下肢の深部腱反射が亢進していた 7 例ではリンパ球%の有意な低下、CD4 の減少傾向、CD8 の有意な上昇、CD4/8 比の有意な低下を認めプロウイルス量も 4.67%と多い傾向を認めた。夜間の頻尿を認めた症例でもリンパ球数の有意な低下を認めた。HTLV-I キャリアーにおいて有意に下肢の深部腱反射や夜間頻尿の頻度が HTLV-I 非感染者に比べて高いかどうかは非感染者での検討をしていないのではっきりいえないが、HTLV-I キャリアーで下肢の深部腱反射が亢進している人でリンパ球の減少や CD4/8 比が有意に低い事は何らかの免疫学的異常が存在している事を示唆し、HTLV-I キャリアーにみられたこれらの症状は HTLV-I 感染との関連が示唆された。

3. HTLV-I tax の subgroup との関係について

て(表 3)

昨年 HTLV-I は LTR 以外に tax でも subgroup 分けができること、Tax A は HAM では 192 名中 30 例 15.6%に観察されるのにたいして HC では 200 名中 14 名、7%にしか観察されず tax A による HAM の odds 比は 2.46 で HTLV-I の subgroup により HAM 発症のリスクが異なる事を報告した。今回我々が行ったキャリアーについても tax A は 111 名中 6 名、5.4%にしか観察されず、tax A はキャリアーでは少ない事が再度確認された。今回 HTLV-I キャリアーにおける HTLV-I 関連所見と tax subgroup との関係について検討した。下肢深部腱反射亢進や夜間頻尿、ぶどう膜炎など HTLV-I 関連と考えられる炎症性症状のある患者は tax A 感染者 6 名中 3 名、50%に見られたのに対して、tax B 感染者では 105 名中 10 名、9.5%にしかみられずこの差は $P=0.021$ と有意で odds ratio は 9.5 であった。

4. Tax subgroup と Tax の機能について(表 4)

HAM 患者末梢血リンパ球を Brefeldin 存在下に 12 時間培養後の細胞内 Tax 及びサイトカイン染色の結果の典型例を図 2 に示す。横軸方向は Tax 発現で縦軸方向がサイトカイン発現を示す。左段が IFN- γ 、右段が TNF- α である。TNF- α は主に Tax 非発現細胞に見られ、Tax 発現細胞には僅かにしか見られなかった。IFN- γ は主に Tax 発現細胞に見られた。Tax A, Tax B HTLV-I に感染している HAM 患者の HTLV-I プロウイルス量、Tax 発現細胞を HTLV-I プロウイルス量で割った感染細胞当たりの Tax 発現細胞の割合、Tax 発現細胞に占めるサイトカイン産生細胞の割合を表 4 にまとめた。HTLV-I ウイルス量(PBMC10,000 個中での tax コピー数)については Tax A に感染している HAM median 値 575、Tax B に感染している HAM 457 ($p=0.23$, Mann-Whitney's U test)と有意差を認めなかった。Tax 発現細胞を HTLV-I 感染細胞の割合で割った HTLV-I 感染細胞当たりの Tax 発現細胞の割合は、Tax A で $30.8 \pm 12.5\%$ 、Tax B では $34.4 \pm 15.1\%$ で全く差を認めなかった ($p=0.57$)。また Tax 発現細胞での IFN- γ 産生細胞の割合は Tax A で $4.62 \pm 1.8\%$ 、Tax B では $3.72 \pm 2.6\%$ ($p=0.38$)と有意差を認めなかった。TNF- α に関しても Tax A, Tax B 間で有意差を認めなかった。

D. 考察

昨年 HTLV-I は Tax でも subgroup できる事を示した。その際 Tax A subgroup は HAM で 15.6%に見られ、一方健康なキャリアーでは 7%にしか見られず、ウイルスの subgroup により HAM の発症リスクが異なる事を示した。しかしこれらのキャリアーでは神経学的診察がされておらず、いわゆるキャリアーでも HTLV-I subgroup の違いにより、腱反射の亢進や頻尿のみられる頻度が違うかどうかは検討できていなかった。今回はこの点を明らかにするために日赤にて献血した際に HTLV-I であることを通知され当科を受診した HTLV-I 陽性献血ドナーの臨床所見、検査所見について検討した。そのなかで明らかになった事はまず ATL の家族歴のある献血ドナーは家族歴のない献血ドナーのキャリアーに比べて HTLV-I プロウイルス量が多く、以前我々が HAM の家族の HTLV-I キャリアーでも HTLV-I プロウイルスが増えていることを報告したように ATL の家族の HTLV-I キャリアーでも HTLV-I 感染細胞が増えるのに遺伝的な背景が存在している事が示唆された。次に献血ドナーでの HTLV-I 感染者で下肢の深部腱反射の亢進や夜間頻尿などの HAM の pre-clinical な所見とも思われる症候の見られるドナーがいた。これらの症候の見られる頻度が HTLV-I キャリアーで非キャリアーに比べて有意に高頻度であるかどうかは今回非キャリアーでの神経学的検索をしていないので不明であるが、これらの症候の見られたドナーでは CD4 の減少傾向、CD8 の有意な増加、CD4/8 の有意な低下が見られ免疫学的な異常を伴っており、たまたまではなく HTLV-I 感染との関係が示唆された。またこれらの HAM 関連の pre-clinical な症候を伴っているのは Tax A HTLV-I に感染しているドナーで有意に高頻度であった。Tax subgroup の違いがどのような機序で HAM 発症のリスクの差に関与しているか調べる目的で行った HTLV-I 感染細胞あたりの Tax の発現細胞及び Tax 発現細胞におけるサイトカイン産生は Tax の subgroup による差を認めず Tax の機能の差以外に Tax A と B とで異なる peptide に対する免疫応答の差による可能性もあると考えられた。

E. 結論

1. ATL の家族歴をもつ HTLV-I キャリアーでは家族歴のないキャリアーよりも HTLV-I

プロウイルス量が多い傾向がみられ、HTLV-I プロウイルス増加に遺伝的背景の存在が示唆された。

2. 下肢深部腱反射の亢進しているキャリアーでは臨床的に異常のないキャリアーよりも CD4/8 比が有意に低く何らかの免疫学的異常が存在しているものと思われた。
3. Tax A は Tax B よりも HC においても pre-clinical な HTLV-I 関連の炎症性の症候を有している割合が多く、HTLV-I subgroup により、HTLV-I 関連疾患へのリスクに違いがあることが再度示唆された。
4. Tax A、および Tax B HTLV-I に感染しているそれぞれ 10 名の HAM 患者では Tax 発現細胞の割合、サイトカイン産生の効率に有意な差はみられなかった。

F. 研究発表

論文発表

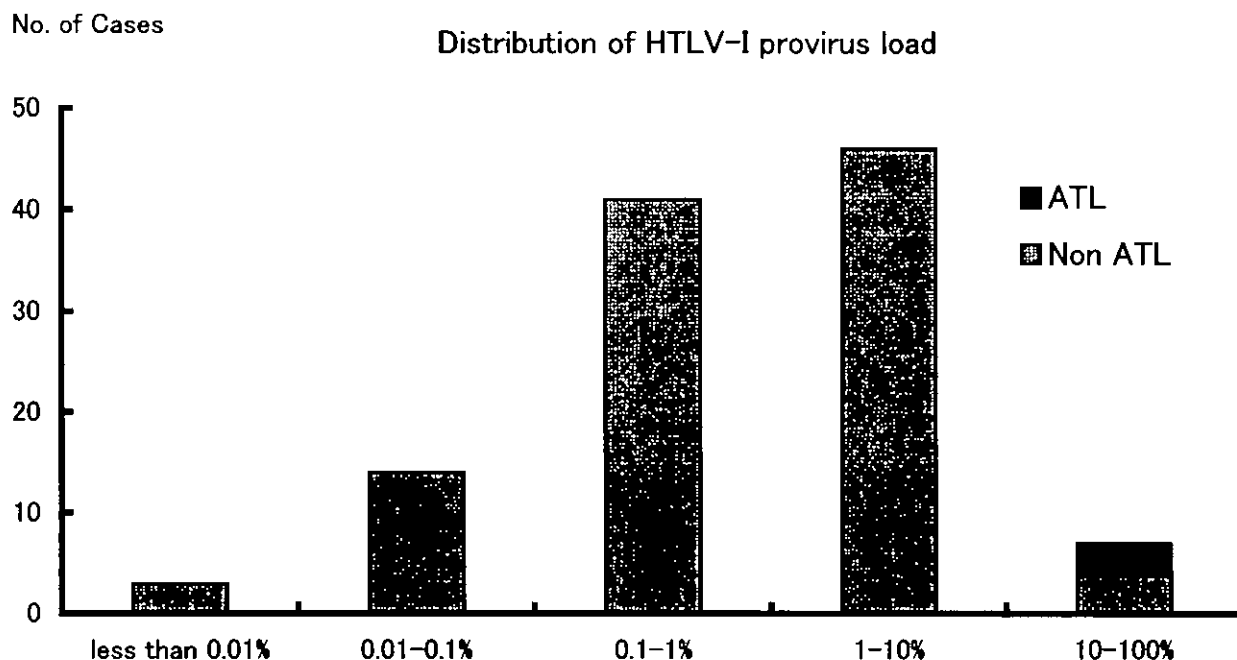
Furukawa Y, Kubota R, Tara M, Izumo S, Osame M

Existence of escape mutant in HTLV-I *tax* during the development of adult T-cell leukemia. Blood 2001 Feb;97(4):987-993

学会発表

1. 第 62 回日本血液学会 2001 年 4 月
古川 良尚、久保田 龍二、納 光弘、早川 仁、太良 光利、
ATL 発症過程における HTLV-I *tax* escape mutant の存在
2. 10th International conference on Human Retrovirology: 2001, 6, Dublin
Furukawa Y, Ymashita M, Usyku K, Izumo S, Nakgawa M, Osame M
Phylogenetic subgroups of human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I in the *tax* gene and their association with different risks for HTLV-I-associated Myelopathy/Tropical spastic paraparesis
3. 10th International conference on Human Retrovirology: 2001, 6, Dublin
Furukawa Y, Kubota R, Tara M, Izumo S, Osame M:
Existence of escape mutant in HTLV-I *tax* during the development of adult T-cell leukemia.

図1. プロウイルス量Range毎の症例数



横軸はプロウイルス量(100PBMC中のHTLV-I感染細胞の割合%)を示す。
Median Provirus量は0.87%であった。

表1. ATL、HAMなどの家族歴の有無による献血ドナーHTLV-Iキャリアーの検査所見との関係

Family history	No. of cases	WBC ^a (/ μ l)	lymphocyte ^a (%)	CD4 ^a (%)	CD8 ^a (%)	CD4/8 ratio ^a	anti-HTLV-I antibody ^b	median HTLV-I provirus load ^c
ATL	10 ^d	6130 \pm 1844	29 \pm 6	54 \pm 11	28 \pm 8	2.1 \pm 1.0	2048	307
HAM/TSP	2 ^d	5650 \pm 636	29 \pm 8	47 \pm 8	38 \pm 6	1.2 \pm 0.4	1280	857
Hematological Malignancy	7	5057 \pm 1196	29 \pm 12	49 \pm 5	32 \pm 6	1.6 \pm 0.5	512	87
No family history	93	5506 \pm 1710	30 \pm 9	49 \pm 8	30 \pm 8	1.8 \pm 0.8	1024	79
Total	111	5539 \pm 1689	30 \pm 9	49 \pm 8	30 \pm 8	1.8 \pm 0.8	1024	87

a. 白血球数、リンパ球%, CD4%, CD8%, CD4/8比での mean \pm SD を示す。

b. 抗 HTLV-I 抗体価は particle agglutination test で測定し、中央値を示してある。

c. HTLV-I プロウイルス量は中央値で示した。(copy number of tax in 10,000 PBMC).

d. 1例は父親が ATL, 母親が HAM の家族歴を持っていた。

ATLの家族歴のある献血ドナーHTLV-I感染者のHTLV-Iプロウイルス量(307)は全体(87)との有意差は無かったが、家族歴のない献血ドナーHTLV-I感染者のHTLV-Iプロウイルス量(79)よりは有意(p<0.05)に高かった。それ以外の項目では家族歴のあるドナーと無いドナーでの有意差は無かった。

表2. 臨床診断・症候と検査所見との関係

Diagnosis or symptom	No. of cases	WBC ^a (/μl)	lymphocyte ^a (%)	CD4 ^a (%)	CD8 ^a (%)	CD4/8 ratio ^a	anti-HTLV-I antibody ^b	median HTLV-I provirus load ^c
ATL	3	10133 ± 1206**	43 ± 11*	72 ± 6**	15 ± 2**	4.7 ± 0.9**	1024	1871
Uveitis in past history	4	4205 ± 1678	32 ± 7	51 ± 7	33 ± 9	1.6 ± 0.5	1536	206
Hyper reflexia in The lower limbs	7 ^d	5528 ± 1716	22 ± 6*	44 ± 7	36 ± 6*	1.3 ± 0.2**	1024	467
Urinary frequency During the night	3 ^d	4966 ± 1553	19 ± 5*	45 ± 3	38 ± 2	1.2 ± 0.1	1024	686
Other carriers	95	5473 ± 1536	31 ± 9	49 ± 7	30 ± 7	1.7 ± 0.6	512	79

- a. 白血球数、リンパ球%, CD4%, CD8%, CD4/8 比での mean ± SD を示す。
 b. 抗 HTLV-I 抗体価は particle agglutination test で測定し、中央値を示してある。
 c. HTLV-I プロウイルス量は中央値で示した。(copy number of tax in 10,000 PBMC).
 d. 1 症例は深部腱反射と夜間頻尿の両症候を伴っていた。
 臨床症候のない other carrier と比べて**は P<0.01, *は p<0.05 の有意差を示す。(Student's t-test)

表3. HTLV-IキャリアーにおけるHTLV-I関連所見とtax subgroup

HTLV-I関連所見	tax A	tax B	χ ²	P	Odds ratio	95%CI
下肢深部腱反射亢進	2 ^a	5				
夜間頻尿	1	2				
ぶどう膜炎の既往	1	3				
上記所見のある症例	3	10				
上記所見のない症例	3	95	5.50	0.021	9.5	1.69-53.47

a. 1症例は下肢深部腱反射亢進と夜間頻尿の両症状あり

χ² reported with Yates's correction; P value, 2-tailed Fisher's exact test. CI, confidence interval

図2. 細胞内TaxおよびIFN-γ, TNF-α染色

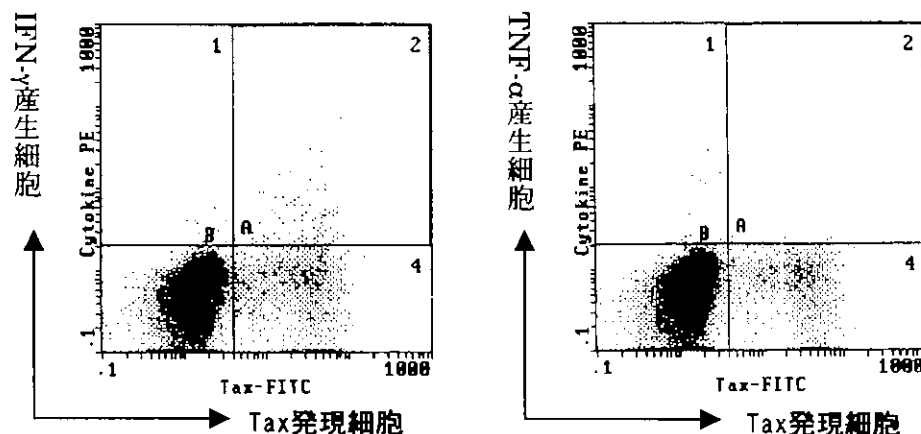


表4. *tax* A, *tax* BにおけるHTLV-I Tax発現およびサイトカイン産生の差の検討

	<i>tax</i> A (n=10)	<i>tax</i> B (n=10)	<i>P</i>
median provirus load (tax copy / 10 ⁴ PBMC)	575	457	0.23
Tax expressing cell / HTLV-I 感染細胞 (%)	30.8 ± 12.5	34.4 ± 15.1	0.57
Tax 発現細胞中の IFN-γ産生細胞 (%)	4.62 ± 1.8	3.72 ± 2.6	0.38
Tax 発現細胞中の TNF-α産生細胞 (%)	1.06 ± 0.8	0.47 ± 0.7	0.10

厚生科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

HTLV-I 感染 S100 β 抗原特異的 T 細胞を用いた HAM ラットモデル作成の試み

主任研究者 出雲 周二 鹿児島大学難治性ウイルス疾患研究センター教授
研究協力者 竹之内徳博 鹿児島大学難治性ウイルス疾患研究センター研究員
研究協力者 山野 嘉久 鹿児島大学第三内科

研究要旨：HAM の病態として HTLV-I 感染 CD4 陽性 T 細胞の脊髄組織への浸潤とそれを排除しようとする細胞性免疫応答が重要であると考えられている。今回我々はラットへの受け身移入により中枢神経内に浸潤し、臨床徴候を示さない一過性の脳脊髄炎を引き起こすことが報告されている S100 β 抗原特異的 T 細胞に HTLV-I を感染させ、ラットに受け身移入し HTLV-I 感染細胞に対する免疫応答を中枢神経内に引き起こすことにより HAM の病態を再現させる動物モデルの作成を試みた。HTLV-I-gag-env 蛋白で前感作した群の血管周囲への炎症性細胞浸潤の程度は前感作しない群と比較して強い傾向にあり、血流を介して浸潤した感染細胞が発現する HTLV-I 抗原に対する免疫応答を中枢神経内に惹起することが出来たと考えられた。今後このモデルは HAM の病態解明に有用であると思われる。

A. 研究目的

HTLV-I は HAM の起因ウイルスとして知られている。HAM 患者脊髄における組織学的特徴は、T 細胞を中心とした慢性炎症性病変で、その病態として我々は HTLV-I 感染 CD4 陽性 T 細胞の脊髄組織への浸潤とそれを排除しようとする細胞性免疫応答が血流の停滞しやすい部位に強調されて起こっていることを想定している。現在まで、この機序を再現する動物モデルは報告されていない。一方、S100 β 蛋白はアストロサイトに発現しており、S100 β 抗原特異的 T 細胞（以下 STCL）はラットへの受け身移入により中枢神

経内に浸潤し、臨床徴候を示さない一過性の脳脊髄炎を引き起こすことが報告されている。今回我々は STCL に HTLV-I を感染させることを試み、さらに HTLV-I 抗原で前感作したラットにその感染 STCL を受け身移入し、STCL により引き起こされる炎症に加えて HTLV-I 感染細胞に対する免疫応答を中枢神経内に引き起こすことにより HAM の病態を再現させる動物モデルの作成を試みた。

B. 研究方法

1) 細胞培養

生後 4~5 週のルイスラットの胸腺