

論 文 要 旨

An animal model of adult T-cell leukemia: humanized mice with HTLV-1-specific immunity.

(ヒト化マウスを用いた新規 ATL 動物モデル)

関西医科大学 微生物学講座
(指導：藤澤 順一教授)

手塚 健太

【研究目的】

成人T細胞白血病(ATL)はヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)の感染が原因で発症する悪性度の高い白血病であり、本邦で発見され、基礎・臨床共に精力的な研究が行われてきた。しかしながら依然としてその発症メカニズムの解明、治療法の開発は十分ではない。これらの研究促進のために、ATL病態を再現する動物モデルの樹立が求められている。

これまで、マウスやラットを用いた感染実験系が報告されているものの、HTLV-1はヒト免疫細胞に趣向性が強く、実験動物個体内でATL病態を再現することは困難であった。そこで本研究では、重複免疫不全マウス(NOGマウス)の頸骨髄内にヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植することで、ヒト血球系・免疫系を有するヒト化マウスを作製した。同ヒト化マウスにHTLV-1産生細胞株を移入することでHTLV-1感染を成立させ、マウス個体内でのATL病態の再現を試みた。

【研究方法】

臍帯血由来CD133陽性造血幹細胞をNOGマウス脛骨髄内に移植し、4ヶ月経過後、腹腔内に γ 線照射HTLV-1感染ヒトT細胞株MT-2 (2.5×10^6 個)を移入し、さらに4~23週間飼育した。血中プロウイルス量、白血球数、T細胞表面抗原およびサイトカイン量を経時的に解析した。感染細胞のクローナリティ解析にはIL-PCR法及びプロウイルスのインテグレーションサイトを同定し、各クローンの占有率をreal-time PCR法により定量化した。また、それぞれの細胞集団よりウイルス発現量をreal-time RT-PCR法により定量した。さらに、HTLV-1特異的免疫応答の指標として、血清中の抗HTLV-1抗体価の定量およびテトラマーを用いたHTLV-1 Tax特異的CTLの検出を行った。

【結果と考察】

臍帯血由来CD133陽性造血幹細胞を移植したNOGマウスでは高率にヒト細胞が生着し、移植後4ヶ月では全血球の60%以上がヒト白血球であった。また、末梢中にCD4 SPおよびCD8 SP T細胞も観察され、マウス個体内でヒト免疫細胞の正常な分化が示唆された。それぞれの血球細胞数は移植後4ヶ月程度でプラトーに達した。そこで、移植後4ヶ月経過したヒト化マウス腹腔内にHTLV-1産生細胞株MT-2を移入し、個体レベルでのHTLV-1感染を試みた。

その結果、血中プロウイルス量の上昇と共に、脾腫を伴う異常なT細胞増殖が観察された。異常増殖したT細胞の表面抗原を解析したところ、マウス末梢血中のCD4 T細胞数が有意に増加しており、CD25陽性CD4 T細胞集団はCD25陰性集団に比較して、より顕著に増殖していた。感染18週目以降にはATLに特徴的な花弁様分葉核をもつ異型リンパ球が末梢血中に出現し、同一の感染細胞クローンがT細胞全体の25~32%を占める、オリゴクローナルな増殖を伴っていた。

CD25陽性CD4 T細胞集団のプロウイルス量は、陰性集団に比較しておよそ3

倍高値であったが、一方で、ウイルス発現量は CD25 陰性集団でより高く、CD25 陽性集団ではウイルス発現が抑制されていた。両集団のクローナリティを解析したところ、CD25 陰性もしくは陽性集団に共通のインテグレーションサイトを持つクローンが同定され、個体内での感染細胞クローンの表面抗原変化が示唆された。CD25 陽性感染細胞は個体内でより強い増殖能を獲得している可能性が考えられ、両集団に共通の感染細胞クローンの経時的な占有率の変動に興味を持たれる。一方、HTLV-1 感染者と同様に、HTLV-1 感染ヒト化マウス個体内では HTLV-1 特異的な抗体や CTL が誘導されており、感染細胞の制御やクローン選択に寄与している可能性が考えられた。

以上の結果から、HTLV-1 感染ヒト化マウスでは ATL に類似した病態が再現されており、同モデルを用いることで、これまでヒトにおいて解析が困難であった ATL 発症課程の解析や、治療候補化合物の個体レベルでのスクリーニングなどに有用であると期待される。