

氏名	肥 後 圭 子
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医 博 第 1830 号
学位授与の日付	平成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科病理系専攻
学位論文題目	Susceptibility of Nude Mice Carrying the Fv-4 Gene to Friend Murine Leukemia Virus Infection (Fv-4 遺伝子を導入したヌードマウスの Friend 白血病ウイルスに対する感受性の解析)
論文調査委員	(主 査) 教授 湊 長博 教授 内山 卓 教授 石本秋稔

### 論 文 内 容 の 要 旨

AIDS や ATL 等のレトロウイルス感染症に対して、その抵抗性遺伝子を導入・発現させ、感染の予防や疾病の治癒を図ろうとする考えがある。マウスに於いては、マウス白血病ウイルスに対する抵抗性遺伝子 Fv-4 が野生マウスに存在し、その遺伝子が分子クローニングされている。Fv-4 によるウイルス抵抗性形質の発現機構としては、Fv-4 が発現した envelope 様の蛋白が、マウス白血病ウイルスの envelope 蛋白とウイルスレセプターを競合して、ウイルスの感染を阻害する可能性が考えられてきた。又、Fv-4 の envelope 様蛋白が dominant negative に作用し、ウイルス粒子に取り込まれて感染不能なウイルス粒子を形成させる可能性も考えられているが、現在のところ不明である。この Fv-4 を BALB/c に導入した Fv-4 congenic BALB/c マウスや Fv-4 transgenic マウスは抵抗性であり、更に、感受性マウスとの F1 マウス、即ち、Fv-4 がヘテロのマウスも、白血病ウイルスに対して完全な抵抗性で、Fv-4 が担う抵抗性は優性であることが知られている。又、著者らは、Fv-4 を持つ骨髓細胞を移植することにより、感受性マウスに抵抗性を獲得させることが可能なことを報告した。このような in vivo に於ける完全な抵抗性の発数とは対照的に、in vitro に於いては Fv-4 による抵抗性は必ずしも発現されないことが以前より指摘されており、著者らは、その原因の一つとして免疫系の関与を想定し、ヌードマウスへ Fv-4 を導入することで、その関与の有無を検討した。

Fv-4 のヌードマウスへの導入は、交配により行った。まず、Fv-4 congenic BALB/c マウス (Fv-4 r/r, Nude +/+ ) と、BALB/c ヌードマウス (Fv-4 +/+, Nude nu/nu) との交配で F1 マウス (Fv-4 r/-, Nude +/nu) を得、この F1 マウス同士を交配することで、F2 マウスを得た。メンデルの法則に従って、F2 世代の 1/4 がヌードマウスとなり、そのうちの 1/4 (全体の 1/16) が Fv-4 ホモ (Fv-4 r/r, Nude nu/nu), 2/4 が Fv-4 ヘテロ (Fv-4 r/-, Nude nu/nu), 残り 1/4 (全体の 1/16) が Fv-4 negative (Fv-4 -/-, Nude nu/nu) のヌードマウスである。これら F2 世代のヌードマウスの F-MuLV に

に対する感受性の有無と、Fv-4 遺伝子型の関係を検討した。

6 週齢の F2 世代ヌードマウスに F-MuLV を腹腔内接種したところ、Friend ウイルス感受性の BALB/c マウスと同様に接種後 2 週までに発症 (splenomegaly) した個体群 (group I), 発症までに 25 ~ 50 日かかる個体群 (group II), そして 7 週の時点でも発症を確認できなかった個体群 (group III) の 3 つに分類できた。これら全てのマウス Fv-4 genotype を Southern blotting で調べたところ, group I は全て Fv-4 negative, 発症までに長期間を要した group II は全て Fv-4 ヘテロ, 50 日時点で splenomegaly が認められなかった group III の個体群は Fv-4 ヘテロかホモのマウスであった。全ての個体の脾臓中のウイルス量を UV-XC test で調べたところ, 感染 2 週までに発症した Fv-4 negative (group I) の全てのマウスには, 高力価のウイルスが存在していた。発症までの期間が長期化した Fv-4 ヘテロの個体群 (group I) 全てからも, ウイルス検出された。splenomegaly が観察されなかった group III の個体群の中にも, かなり高い力価のウイルスの存在が確認された個体もあったが, それらは全て Fv-4 ヘテロのマウスであり, 一方, ウイルスの存在が認められなかったマウスは, 全て Fv-4 ホモであることが判明した。つまり, ウイルス接種後 50 日の時点で splenomegaly が見られなかった Fv-4 ヘテロのマウスもウイルス感受性であり, 他の実験群で更に長期にわたり観察した結果, これらヘテロのマウスはいずれは発症するマウスであることが判明した。尚, F2 世代のヌードマウスにおける Fv-4 の発現を, flow cytometry で調べたところ, Fv-4 を有するマウスは, ホモ・ヘテロに関わらず, 全て Fv-4 を発現していた。つまり, Fv-4 は, ヘテロであってもマウス白血病ウイルスに対して完全な抵抗性であるとされてきたが, 免疫機能, 特に細胞性免疫機能が欠如しているヌードマウスでは, Fv-4 ヘテロの場合, 感受性であることが判明し, Fv-4 がなう抵抗性の発現に, 免疫系が関与していることが示唆された。しかし, Fv-4 ホモのヌードマウスは抵抗性を示したことより, 次のような可能性が考えられる。即ち, 今回の解析では, Fv-4 ホモとヘテロの間に Fv-4 product の発現量の差を見出すことはできなかったが, 何らかの形で, gene dosage effect と言われるものが関わっている。そして, ある閾値以上の Fv-4 product が存在する場合は, 免疫機構の関与が無くても, あるいは, ヌードマウスに存在する程度の液性免疫の関与のみで, 抵抗性を発現することができるが, ある閾値以下の場合, 免疫機構, 特に, 細胞性免疫機構の関与が, 抵抗性の発現に不可欠となる。もし, この仮説が正しい場合, このような現象は, 免疫系に異常を来す AIDS や ATL 患者への, 抵抗性遺伝子導入による治療を行う際には, 留意しなければならない重要な問題と思われる。

#### 論文審査の結果の要旨

マウスの Fv-4 と呼ばれるマウス白血病ウイルスに対する抵抗性遺伝子は, 受容体をウイルス粒子と競合することにより作用すると考えられている。この遺伝子は優性遺伝子で, Fv-4 がヘテロのマウスもウイルス感染に対して完全な抵抗性を示す。しかし, *in vivo* における現象とは対照的に, *in vitro* においては, この抵抗性は必ずしも顕著でない。申請者は, Fv-4 を有するマウスの *in vivo* における抵抗性発現への免疫系の関与を検討するため, Fv-4 遺伝子を交配によりヌードマウスに導入した。その結果, Fv-4 ヘテロのヌードマウスはウイルスに感受性で, Fv-4 ホモのヌードマウスのみがウイルス抵抗性であった。

フローサイトメトリーによる検索で、Fv-4 の発現はホモ及びヘテロの両マウスにおいて確認された。Fv-4 遺伝子は、ヌードマウスでは劣性遺伝子として働くことより、Fv-4 による抵抗性形質の発現には、免疫系の関与があることが示唆された。

本研究は、ウイルス性疾患に対する遺伝子治療法開発の、基礎的研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 8 年12月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。