

課題 15

サルに見られる成人T細胞白血病ウイルスに関する研究

三好勇夫・吉本静雄・藤下雅敏（高知医大）

1. HTLVのニホンザルへの感染

HTLV抗体陰性の3.5才の雄のニホンザルに、 $1.5-2 \times 10^8$ 個のRa-1細胞を2週間隔で4回静注した。Ra-1は私共が雄ウサギのリンパ球とMT-2細胞との混合培養により樹立したウサギ由来のリンパ系細胞株であり、HTLVの持続感染状態にある。静注後経時的に採血し、MT-2細胞を抗原として蛍光抗体間接法によりHTLV抗体を測定した。最初のRa-1細胞静注後2週目にHTLV抗体陽性となり、抗体価は160倍であった。さらに1週後抗体価は320倍と上昇し、以後この抗体価を維持した。最後のRa-1細胞静注後8週目にリンパ球を採取し、TCGFの存在下に2か月間培養した。この間に行った染色体分析により培養細胞がサルの細胞であることが確認された。これらの培養細胞の中にATL患者血清と反応するHTLV抗原とHTLV粒子を認めた。

2. サルのHTLV様レトロウイルスの遺伝子解析

私共はニホンザルをはじめ数種類の旧世界ザルがHTLVに類似したレトロウイルスに自然感染していることを見出したが、これらのサルから分離されたウイルスにつきgene specific probeを用いてサザン法により解析した。その結果、サルのウイルスがHTLVと非常に近縁なものであり、HTLVに特有と思われたpXをもち、LTR-gag-pol-env-pX-LTRというゲノム構造を持つことが示された。

霊長類におけるヒト関連ウイルスの血清疫学、並びに細胞学的検索

石田貴文（東大・理）・山本興太郎*（東医歯大・難研）

*共同実験者

昨年度に引き続き、各種霊長類自然集団におけるHTLV感染状況の検索、並びに、昨年度来樹立されている野生ニホンザル由来の細胞株の性状に

関する検索を中心に研究をおこなった。

1. 各種霊長類におけるHTLVの血清疫学

現地で採血され、霊長研・変異部門に凍結保存されている旧世界ザル（マカク3種類、ランゲール2種類、ヒヒ3種類、グエノン1種類）の血清1458個体につき抗HTLV抗体の検索をおこない、以下の結果を得た（結果の一部は年報14巻に山本が既に報告している）。

トクモンキー（スリランカ）	17.5%
シシオザル（インド）	12.5%
スラウェシマカク（インドネシア）	16.9%
アヌビスヒヒ（エチオピア）	7.2%
アヌビス×マント雑種（エチオピア）	13.5%
マントヒヒ（エチオピア）	0.0%
ゲラダヒヒ（エチオピア）	0.0%
グリヴェットモンキー（エチオピア）	28.1%
ハヌマンランゲール（スリランカ）	0.0%
カオムラサキランゲール（スリランカ）	0.0%

以上の様に、マカク・ヒヒ・グエノンに陽性個体が見いだされたのに対し、ランゲールは陰性であった。他の報告も併せると旧世界ザルの中でHTLVはオナガザル亜科に陽性、コロブス亜科に陰性となり、系統を反映した結果が得られることから、HTLVの自然史を霊長類の系統から辿ることも可能と考えられる。また、アヌビスヒヒ（HTLV陽性）とマントヒヒ（HTLV陰性）との雑種において陽性個体が高率に見いだされた点は本ウイルスの伝播・発現を考える上で興味深い。

2. ニホンザル細胞株の性状

下北・志賀・波勝崎・高崎山に生息する個体より計9株のリンパ芽球様細胞株を樹立した。各種のモノクローナル抗体を用い細胞表面抗原・ウイルス抗原の検索を、サザンハイブリダイゼーション法を用いウイルスゲノムの検出を平行しておこない、HTLV陽性細胞を含む株2種、EBV類似ウイルス陽性細胞を含む株4種が得られていることがわかった。

サルT細胞白血病ウイルス（STLV）の分離とその垂直感染

速水正憲・辻本 元・石川晃一（東大・医科研）

1) 種々のサル類からのSTLV産生株の樹立

STLV自然感染ザル計11種(チンパンジー、テナガザル、ミドリザル、ブタオザル、ベニガオザル、タイワンザル、ニホンザル、ヤクザル、ボンネットザル、サイクスザル、マウラザル)より約20株のSTLV産生細胞株を樹立した。

いずれもHTLV-1と交差する抗原を保有し、電顕によりC型ウイルス粒子が検出された。これらの細胞はいずれも非Bであったが、非Tもあり、またTの中でも helper と suppressor マーカーを有しているものがあつた。

2) STLVプロウイルスの解析

上記一部の樹立細胞のプロウイルスに関して、HTLV-1のcDNAをプローブとして解析を行ったところ、サイズと遺伝子配列がHTLV-1と等しい塩基配列が検出された。しかし、Pst Iによる切断地図はヒトとサルおよびサル種間で異なっていた。すなわち同じマカク属に属するブタオザル、ベニガオザル、ニホンザルは同一の切断地図を示したが、ミドリザルとチンパンジーでは各々異なるパターンを示した。このことはヒトおよび異なるサル種間における相互伝達が起こつたとしても、最近のことではなく、かなり以前の出来事と考えられる。

3) STLVの垂直感染の実験的証明

昨年度に引き続き、妊娠ニホンザル3匹とアカゲザル1匹の帝王切開により得た臍帯血リンパ球、胸腺、脾臓、骨髓細胞の培養を行い、ウイルス抗原の検出を行った。その結果、ニホンザル2例の臍帯血リンパ球から抗原が検出された。昨年度までのニホンザル、アカゲザル、カニクイザルの成績をまとめると、計12匹のうち4例で検出されたことになり、ウイルスの母親から胎児への移行が証明された。

課 題 16

プロテインCおよびそのインヒビターに関する病態生化学的研究

鈴木宏治・楠本宏司・橋本仙一郎(三重大・医)・松田儀一(三重大・医・病院)

サル類の肝疾患—特に肝炎ウイルスとの関係について—

阿部賢治(国立予研・病理)

ヒトウイルス性肝炎の研究にチンパンジーが唯一の感受性動物として用いられている。しかし霊長類の自然界でのA型肝炎ウイルス(HAV)やB型肝炎ウイルス(HBV)の感染状況については必ずしも十分な検討がなされていない。そこで京大霊長研にて飼育されている野生サル類についてHAV及びHBVの感染状況について検討し、チンパンジーに代わる新しいヒト肝炎ウイルス感受性動物の開発を試みた。対象となつたサルは、ニホンザル、アカゲザル、マントヒヒ、ボンネット、アッサム、シロガオオマキ、ワオキツネ、フサオマキ、ベニガオザル、ブタオザル、ミドリザル、ヨザル、オオギャラゴ、リスザル、クモザル、カニクイザル、チンパンジー、パタスの計18種である。ウイルスの検索は血清中のHAV抗体の測定をELISA(HAVAB, ダイナボット)にて実施した。結果はニホンザル167/294(陽性数/総数, 以下同様)、アカゲザル57/123, マントヒヒ0/6, ボンネット2/2, アッサム3/3, シロガオオマキ1/1, ワオキツネ2/2, フサオマキ1/2, ベニガオザル4/5, ブタオザル4/4, ミドリザル1/2, ヨザル5/6, オオギャラゴ2/2, リスザル1/1, クモザル1/1, カニクイザル3/3, チンパンジー3/5, パタス1/2であった。以上の結果より絶対数が多いニホンザルでの高陽性率(56%)が目された。ニホンザルを群別でみると長瀬(69%), 高浜(64%)と高率なのに對し嵐山0%と感染率の差がみられ、疫学的にも興味ある知見が得られた。B型肝炎については日数の都合上間に合わなかつたが、近日中に測定予定である。