

## 基礎研究班班長報告

### 成人T細胞白血病ウイルス(HTLV-I)の感染メカニズムの解明

班長

畑 中 正 一

【要約】成人T細胞白血病(ATL)の母子感染防止に関する基礎研究を行った。ATL発症の病原体と考えられるHTLV-Iの感染メカニズムを解析してHTLV-Iキャリアの最終診断となる確定検査法を確立した。

【見出し語】母子感染、ATL、HTLV-I、キャリア、確定検査法、PA、ELISA、WB、RIP、PCR

【研究方法】血液中のHTLV-I抗原に対する抗体を検出するために、PA、ELISA、IF、WB、RIPなどの方法を適用して比較検討した。抗体検出と共にHTLV-IのプロウイルスDNAの有無をPCR法にて確認した。

【結果】現在までの研究でHTLV-Iの感染は、ウイルス感染細胞と非感染細胞との融合によって感染するのが主な経路と考えられる。HTLV-Iのキャリアの母乳中にある感染リンパ球細胞が、乳児の口腔から消化管にいたるまでのリンパ系組織の細胞と融合して感染が成立するものと予想される。細胞を含まないウイルス京都大学ウイルス研究所(Institute for Virus Research, Kyoto University)

ス粒子単独では感染はきわめて希であることが *in vitro* 実験から推測されている。また、経胎盤感染を予想させるケースは9%を越えず、大部分母乳感染によることが明らかになった。HTLV-Iの構造蛋白 *gag*、*env* に対する抗体反応を検討した。検討方法には PA、ELISA、IF、WB、RIP、並びにPCR等の検出法を比較検討した。

[1] PA法・PA法では、最近偽陽性が多いので用いられているウイルスの精製法細胞成分の混入度合などに変化をきたした可能性がある。妊婦では特にIgMによる偽陽性の問題があり採血時期、HLA抗体等について考慮しながら

I g G抗体による検査法を確立した。

[2] E L I S A法・偽陽性はP A法に比べると少ない。偽陰性の問題は今後検討を要する。妊婦の診断には、E L I S A法がP A法よりも優れている。

[3] I F法・この方法は経験を積んだ研究室でのみ正確な判定が期待される。P A法及びE L I S A法では陽性でありながら、I F法では陰性となるケースもある。

[4] W B法・現在行われているW B法では、e n v蛋白の抗体が検出しにくい。この理由はe n v蛋白がゲル電気泳動の時、用いられるS D Sの変性効果により、抗体反応が起こらないものと推測される。S D Sにより変性していないe n v蛋白は抗体とよく反応するから、今後はW B法と平行してe n v蛋白のテストをする必要がある。p 19についても非特異的なバンドがみられる。ウイルス感染細胞の種類により、非特異性バンドが異なる。他のg a g蛋白であるp 15、p 24、p 28、p 37、及びp 53等の多重陽性並びにe n vテストとの重複陽性の結果と関連してW B法による確定診断を検討した。

[5] R I P法・この方法では、e n v及びg a g蛋白に対する抗体反応が同一条件で等価にみられる。抗体反応の確認には最も優れているが、特別な実験室でのみ検討できる。アイソトープを使う難点がある。

[6] P C R法・この方法は、1988年10月以来装置が輸入されてH T L V - Iの遺伝子診断法として精力的に研究した。P C R法と他

の検査で得られた結果と比較検討して抗体法による確定診断の確立のための資料とした。P A法及びE L I S A法で、抗体価が低いケースでもH T L V - Iのプロウイルスが検出される。

【考察】H T L V - I感染のメカニズムでは、母子感染によらない経胎盤感染の頻度は大きな母集団で検討された。また、母子感染の成立する確率と妊婦キャリアの抗体価との相関を検討した。各種抗体検査法の比較検討し、遺伝子診断に相当するP C R法の結果と総合しながら最終の抗体検査による確定診断プロトコルを確立した。

#### 【文献】

- 1) 畑中正一：序説 レトロウイルスとは。治療学 22(2) 124-126, 1989.
- 2) 畑中正一：ウイルスの進化。朝日やさしい科学教室 pp.85-117, 1989.
- 3) 花岡正男、畑中正一、難波紘二、内山卓：ヒトウイルス腫瘍。癌治療・今日と明日 11(2) 5-14, 1989.
- 4) 畑中正一：ウイルスと神経(序)。Medical Immunology 17(4) 411, 1989.
- 5) 畑中正一編集：ガン遺伝子の解明、ガン細胞への挑戦。別冊サイエンス(日経サイエンス社) 90, 91 1989.
- 6) 畑中正一：がんと闘い。第32回全国学生ゼミナール in 鹿児島 pp.166-173 1989.
- 7) 畑中正一：ガンはどこまで治るか。創造的市民 21 pp.13-15, 1989.

- 8) 畑中正一：レトロウイルスと人の病気。三菱化成生命研シンポジウム『RNA学の新しい展開』抄録集 pp.14-15 10月13日, 1989.
- 9) 畑中正一：ヒト・レトロウイルス感染症。第32回日本感染症学会中日本地方会総会 特別講演 抄録 pp.15, 10月21日, 1989.
- 10) 畑中正一：核小体シグナル (NOS)。第42回日本細胞生物学会大会 講演要旨集 pp.69: 2SP-1840, 10月26日, 1989.
- 11) 畑中正一：1. ウイルスに関する検査 A. 発癌とウイルス。臨床検査 33(11) 1254-1258, 1989
- 12) 畑中正一：1. HTLV-I 関連症候群 - 基礎の立場から。Medical Immunology 18(5) 749-753, 1989.
- 13) 畑中正一：レトロウイルス感染者の発病を阻止する新しい視点。細胞工学 8(12) 1083-1088, 1989.
- 14) 畑中正一：癌遺伝子研究の現在。医学界新聞 1878号 1990.
- 15) 畑中正一：遺伝子の病気「癌」に迫る。朝日新聞社、Modern Medicine 1990年-1 95-96, 1990.
- 16) 畑中正一：「核小体シグナルNOS」の発見。サイエンス 2 39-42, 1990.
- 17) 畑中正一：遺伝子工学の将来。21世紀の医河野博臣編 (有斐閣)、pp173-193, 1990.
- 18) 畑中正一：HTLV-Iの発癌性 -HTLV-Iゲノム中に存在する癌遺伝子。医学のあゆみ 153(5) 258 1990.
- 19) 畑中正一：Dr. David E Housman らのWilm's 腫瘍遺伝子の研究。Oncologia 23(3) 130-133 1990.
- 20) 畑中正一：ATLウイルスに発見されたOncogene。Biomedica (北隆館) 5(6) 605-610, 1990.
- 21) 畑中正一：日米合同エイズ免疫会議。Modern Media 36(6) 304-312, 1990.
- 22) 畑中正一：がんウイルスの研究史(1)。Biomedica 5(8) 842-845, 1990.
- 23) 畑中正一：癌ウイルスにかかっても癌の発病を予防する戦略。Oncologia 23(4) 138-140, 1990.
- 24) 畑中正一：がんウイルスの研究史(2)。Biomedica 5(9) 947-951, 1990.
- 25) 畑中正一：発癌におけるウイルスの関与。癌とウイルス (メディカルビュー社) 33 6-13, 1990.
- 26) 畑中正一：がんウイルスの研究史(3)。Biomedica 5(10) 1058-1062, 1990.
- 27) 畑中正一：HTLV-Iのtax遺伝子と細胞のがん化。日本臨床 48(10) 279-289, 1990.
- 28) 畑中正一：ウイルスと発癌。肝疾患研究の進歩VI メディカルビュー社 pp2-21, 1990.
- 29) 畑中正一：癌ウイルス研究の現況。臨床検査 Current review 中外医学社 pp236-241, 1990.
- 30) 畑中正一：がん遺伝子がつくるタンパク質の性質と機能。Oncologia 23(6) 129, 1990.
- 31) 畑中正一：ヒト・レトロウイルス感染症で発病を阻止する細胞内ワクチンの考え。Medical Immunology 20(3) 247-255, 1990.
- 32) 畑中正一、川西健登：PCR法でHTLV-Iの何がわかるのか。蛋白質 核酸 酵素 35(17) 3055-3060, 1990.

- 33)Hatanaka,M. and Nam,S.H.: Identification of HTLV-I gag protease and its sequential processing of the gag gene product. *J.Cell.Biochem.* 40 15-30, 1989.
- 34)Adachi,Y. and Hatanaka,M.: Binding of cellular protein(s) to U<sub>3</sub> region of human T-cell leukemia virus type-I long terminal repeat. *Virus Genes* 2(4) 307-311 1988,(appeared in 1989).
- 35)Hatanaka,M. and Nam,S.H.: Synthesis and activity of HTLV-I protease and its mutants. *Proteases of Retroviruses*, ed. V.Kostka, Walter de Gruyter, Berlin, pp.119-124, 1989.
- 36)Hatanaka,M.: Regulation of human retroviruses in adult T cell leukemia and acquired immunodeficiency syndrome. *The Keio Journal of Medicine* 38(2) June p.214 1989.
- 37)Kubota,S., Siomi,H. Satoh,T., Endo,S., Maki,M. and Hatanaka,M.: Functional similarity of HIV-I rev and HTLV-I rex proteins: Identification of a new nucleolar-targeting signal in rev protein. *BBRC.* 162(3) 963-970, 1989.
- 38)Kawanishi,T., Akiguchi,I., Fujita,M., Kameyama,M. and Hatanaka,M.: Low-titer antibodies reactive with HTLV-I gag p19 in patients with chronic myeloneuropathy. *Ann. Neurol.* 26 515-522, 1989.
- 39)Zhou,Z., Adachi,Y., Maki,M. and Hatanaka,M.: Expression of post-transcription regulatory gene of HTLV-I, rex, in *Escherichia coli*. *Virus Genes* 3(2) 153-158, 1989.
- 40)Hatanaka,M. and Nam,S.H.: Viral proteinases as targets for chemotherapy. Processing sequence of gag-pro polyprotein by HTLV-I proteinase. *Current Communication In Molecular Biology.* Cold Spring Harbor Laboratory press. pp. 117-126,1989.
- 41)Nosaka,T., Siomi,H., Adachi,Y., Ishibashi,M., Kubota,S., Maki,M. and Hatanaka,M.: Nucleolar targeting signal of human T-cell leukemia virus type I rex-encoded protein is essential for cytoplasmic accumulation of unspliced viral mRNA. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA* 86 9798-9802, 1989.
- 42)Tanaka,A., Takahashi,C., Yamaoka,S., Nosaka,T., Maki,M. and Hatanaka,M.: Oncogenic transformation by the tax gene of human T-cell leukemia virus type I in vitro. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 87 1071-1075, 1990.
- 43)Arita,Y., Kita,K., Nasu,K., Doi,S., Fukuhara,S., Nishikori,M., Miwa,H., Tatsumi,E., Nosaka,T., Hatanaka,M. and

- Uchino,H.: Frequent expression of myeloid antigen (CD13) on immature T cells in culture. *Acta Haematologica Japonica* 53 21-34, 1990.
- 44)Uemori,T., Shimojo,T., Asada,K., Asano,T., Kimizuka,F.,Kato,I., Maki,M., Hatanaka,M., Murachi,T., Hanzawa,H. and Arata,Y.: Characterization of a functional domain of human calpastatin. *Biochem. Biophys.Res.Commun.* 166 1485-1493,1990.
- 45)Hatanaka,M.: Discovery of the nucleolar targeting signal. *BioEssays* 12 143-148, 1990.
- 46)Siomi,H., Shida,H., Maki,M. and Hatanaka,M.: Effects of a highly basic region of human immunodeficiency virus tat protein on nucleolar localization. *J.Virol.* 64 1803-1807, 1990.
- 47)Lee,K., Tanaka,M., Shigeno,C., Yamamoto,I., Ohta,S., Rikimaru,K., Hatanaka,M. and Konishi,J.: Epidermal growth factor stimulates the anchorage-independent growth of human squamous cell carcinomas overexpressing its receptors. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 168 905-911,1990.
- 48)Tsuboi,K.,Yamaoka,S.,Maki,M.,Ohshio,G., Tobe,T. and Hatanaka,M.: Soluble factors including proteinases released from damaged cells may trigger the wound healing process. *Biochem.Biophys.Res. Commun.* 168 1163-1170,1990.
- 49)Adachi,Y.,Nosaka,T. and Hatanaka,M.: Protein kinase inhibitor H-7 blocks accumulation of unspliced mRNA of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I). *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 169 469-475, 1990
- 50)Takahashi,J.A., Mori,H., Fukumoto,M., Igarashi,K., Jaye,M., Oda,Y., Kikuchi,H. and Hatanaka,M.: Gene expression of fibroblast growth factors in human gliomas and meningiomas: Demonstration of cellular source of basic fibroblast growth factor mRNA and peptide in tumor tissues. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 87 5710-5714, 1990.
- 51)Kubota,S., El-Farrash,M.A., Maki,M., Harada,S. and Hatanaka,M.: 2,3 Dimercapto-1-propanol inhibits HIV-1 tat activity, viral production, and infectivity in vitro. *AIDS Research and Human Retroviruses* 6 919-927, 1990.
- 52)Ishii,K., Adachi,Y., Hatanaka,M., Sakamoto,H. and Furuyama,J.: Spontaneous and cAMP-dependent induction of a resting phase and neurite formation in cell hybrids between human neuroblastoma cells and thymidine auxotrophs of rat nerve-like cells. *J.Cell.Physiol.* 143 569-576, 1990.

- 53) Adachi, Y., Maki, M., Ishii, K., Hatanaka, M. and Murachi, T.: Possible involvement of calpain in down-regulation of protein kinase C. *The Biology and Medicine of Signal Transduction* 24 478-484, 1990.
- 54) Mori, H., Maki, M., Oishi, K., Jaye, M., Igarashi, K., Yoshida, O. and Hatanaka, M.: Increased expression of genes for basic fibroblast growth factor and transforming growth factor type  $\beta 2$  in human benign prostatic hyperplasia *The Prostate* 16 71-80, 1990.
- 55) Adachi, Y., Murachi, T., Maki, M., Ishii, K. and Hatanaka, M.: Calpain inhibitors block TPA-dependent down-regulation of protein kinase C. *Biomedical Research* 11(5) 313-317, 1990.
- 56) Maki, M., Hatanaka, M., Takano, E. and Murachi, T.: Structure-function relationship of calpastatins. in *Intracellular calcium-dependent proteolysis* Eds. Mellgren, R.L., Murachi, T. 37-54 CRC Press Florida, 1990.
- 57) Kanoamori, H., Suzuki, N., Siomi, H., Nosaka, T., Sato, A., Sabe, H., Hatanaka, M. and Honjo, T.: HTLV-I p27<sup>rex</sup> stabilizes human interleukin-2 receptor  $\alpha$  chain mRNA. *The EMBO Journal* 9(12) 4161-4166, 1990.
- 58) Lee, W.J., Adachi, Y., Maki, M., Hatanaka, M. and Murachi, T.: Factors influencing the binding of calpain I to human erythrocyte inside-out vesicles. *Biochemistry International* 22(1) 163-171, 1990.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



【要約】成人T細胞白血病(ATL)の母子感染防止に関する基礎研究を行った。ATL発症の病原体と考えられるHTLV-1の感染メカニズムを解析してHTLV-1キャリアの最終診断となる確定検査法を確立した。