

学位論文題名

Studies on Major Histocompatibility Complex
and Cytokine Responses in Bovine Leukemia
Virus-Infected Animals

(牛白血病ウイルス感染動物における
主要組織適合性抗原およびサイトカイン応答に関する研究)

学位論文内容の要旨

牛白血病ウイルス(Bovine Leukemia Virus : BLV)は人 T 細胞白血病ウイルス I 型(HTLV-I)に近縁な C 型レトロウイルスで、牛の悪性 B リンパ腫である地方性牛白血病を引き起こす。感染牛はしばしば致死的で、経済損出も大きいことから有効な防御法の確立が望まれている。本研究は、BLV 感染症における疾患感受性および白血病発症機構解明を目的に以下の宿主免疫応答について検討した。

外来抗原情報を免疫細胞へ提示する主要組織適合性抗原(MHC) class II 抗原は疾患との関連性が報告されている。MHC class II 遺伝子群の一つであるβ鎖をコードする *DRB1* が最も機能的で多型性あるため免疫応答および疾患感受性の差を規定している可能性が示唆されている。しかし、羊 MHC は遺伝子構成と塩基配列が明確でない。そこで 97 頭(Suffolk、Cheviot および Carriedale 種)について塩基配列を決定した結果、18 既知対立遺伝子に加え 17 新規対立遺伝子を見出した。また、これらの情報をもとに羊 MHC class II *DRB1* の簡易検出法であるポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型(PCR-RFLP)法を確立した。

次に、BLV 感受性および抵抗性に関与する MHC class II 対立遺伝子をもつ羊の選定を行い、これら羊に BLV を実験感染しウイルス量ならびに免疫応答能の差異について検討した。その結果、ウイルス量には差は認められなかったが、抵抗性遺伝子保有羊では BLV 感染後の中和抗体の誘導能、BLV エンベロープ由来 Th エピトープペプチドに対する応答性およびインターフェロン(IFN)- γ 産生能が高いことが明らかとなった。

最後に、BLV 感染動物における病態の進行にはサイトカインの関与が示唆されることから BLV 感染牛におけるサイトカインプロファイルを検討した。その結果、腫瘍壊死因子(TNF)の関与が示唆されたため、病態進行と TNF およびその受容体の関係について検討した。病態後期であるリンパ球増多症(PL)期では末梢単核球(PBMC)は TNF- α に対し高反応性を示し、TNF-II 型受容体(TNF-RII)の発現も PL 期の PBMC や腫瘍組織(リンパ節)で高発現していることが明らかとなった。このことから、TNF およびその受容体の発現バランスが BLV 感染症の病態進行に重要なかわりを持つことが示唆された。

本研究で、異なる MHC class II *DRB1* 対立遺伝子間において免疫応答に差異があること、ならびに、この差異によって BLV 感染の病態進行が規定されている可能性が示唆された。一方、BLV 感染牛の異なる感染ステージにおいて TNF- α 応答性に差異がある

こと、特に、PL 期および腫瘍期では増殖反応が強く誘導されることが明らかとなった。このように宿主の免疫応答の差異が BLV 感染症の病態進行を規定していることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 沼 操
副 査 教 授 喜 田 宏
副 査 助 教 授 大 橋 和 彦
副 査 助 教 授 荻 和 宏 明

学 位 論 文 題 名

Studies on Major Histocompatibility Complex and Cytokine Responses in Bovine Leukemia Virus-Infected Animals

(牛白血病ウイルス感染動物における

主要組織適合性抗原およびサイトカイン応答に関する研究)

牛白血病ウイルス(Bovine Leukemia Virus : BLV)は、牛に悪性 B リンパ腫である地方病性牛白血病を引き起こし、経済損出も大きいことから有効な防御法の確立が望まれている。本研究は、BLV 感染症における疾患感受性および白血病発症機構解明を目的に以下の宿主免疫応答について検討した。

まず実験に用いる羊の主要組織適合性抗原(MHC) class II 抗原遺伝子構成と塩基配列を解析した。97 頭の羊について塩基配列を決定した結果、18 既知対立遺伝子に加え 17 新規対立遺伝子を見出した。また、これらの情報をもとに羊 MHC class II *DRB1* の簡易検出法であるポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型を検出する PCR-RFLP 法を確立した。

次に、BLV 感受性および抵抗性に関与する MHC class II 対立遺伝子をもつ羊の選定を行い、これら羊に BLV を実験感染しウイルス量ならびに免疫応答能の差異について検討した。その結果、ウイルス量には差は認められなかったが、抵抗性遺伝子保有羊では BLV 感染後の中和抗体の誘導能、BLV エンベロープ由来ヘルパー T 細胞エピトープペプチドに対する応答性およびインターフェロン γ 産生能が高いことが明らかとなった。

最後に、BLV 感染動物における病態進行と腫瘍壊死因子(TNF)およびその受容体の関係について検討した。病態後期であるリンパ球増多症(PL)期の末梢単核球は TNF α に対し高反応性を示し、TNF-II 型受容体の発現も PL 期のリンパ球や腫瘍組織で高いことが明らかとなった。このことから、TNF α およびその受容体の発現バランスが BLV 感染症の病態に重要なかわりを持つことが示唆された。

以上のように申請者は、異なる MHC class II *DRB1* 対立遺伝子間における免疫応答の差異が BLV 感染の病態を規定している事、ならびに BLV 感染牛の異なる感染ステージにおいて TNF α 応答性に差があり、この差が BLV 感染症の病態進行を規定している可能性を示した。この成績は牛白血病の病態発現に貴重な知見を提供した。よって、審査員一同は、申請者が博士（獣医学）の学位をうける資格を有すると認めた。