

HTLV-1tax 遺伝子導入マウスにおける成人 T 細胞白血病モデル としての有用性の検討

山本美江^{1,5)}・棚林 清¹⁾・山田章雄¹⁾・澤 洋文³⁾・長島和郎³⁾・佐多徹太郎²⁾
倉田 毅²⁾・William W. Hall⁴⁾・佐藤勝紀⁵⁾・長谷川秀樹²⁾
¹⁾国立感染症研・獣医科学・²⁾感染病理・³⁾北海道大・⁴⁾University College Dublin・⁵⁾岡山大

【目的】成人 T 細胞白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-1) の感染により引き起こされる致死率の高い腫瘍性疾患であるが、その病態の解明はまだまだ明らかではない。その発症予防、治療法の確立のためにヒトでの病態を反映した発症モデル動物が望まれている。我々は ATL 発症モデルマウスの作成を目的として HTLV-1 の発癌に関連する遺伝子である tax 遺伝子を強発現するトランスジェニックマウスを作成した^{1, 2)}。今回我々は ATL モデルとしての有用性を確認するために *in vivo* での病態解析を行った。

【材料と方法】胸腺で分化中の T 細胞のみに特異的に発現させるように設計された lck プロモーターを含むベクターに HTLV-1tax 遺伝子を組み込み、マイクロインジェクション法により C57BL/6 マウスに遺伝子導入を行いトランスジェニックマウスを作成した³⁾。動物は国立感染症研究所 動物実験委員会規定にそって飼育管理を行い、給水、飼料は自由摂取とした。週に一度、体重測定および被毛、行動の観察を行い、健康不良な動物においては麻酔後採血し、剖検した。血清は -30℃ で測定まで保存した。*in vivo* における病態解明のため、ATL の発症時期と皮膚症状または体重減少との関連を調べた。ATL の発症は剖検時にリンパ腫の有無で確認した。一方、血液生化学的解析として、富士ドライケム 3000 を用いて TP.ALB、GOT、GPT 及びカルシウム濃度を測定した。

【結果】20 匹の ATL モデルマウスについて解析したところ、その発症日は最短で生後 238 日令、平均 439 日令、最長日令は 601 日だった。その皮膚症状としては、顎下、頸部、目の周囲、背中、腹部等に皮疹を伴う異常が観察され搔痒により悪化した。これらのマウスではすべてリンパ腫を呈した。体重において呼吸不全、腹部の異常等が現れるとともに、急激な体重減少が出現した。またすべてのマウスは、24 ヶ月以内に ATL 様症状を発症して死亡した。また対照動物では 2 年以

上生存した。一方、GOT、GPT には相違はみられ

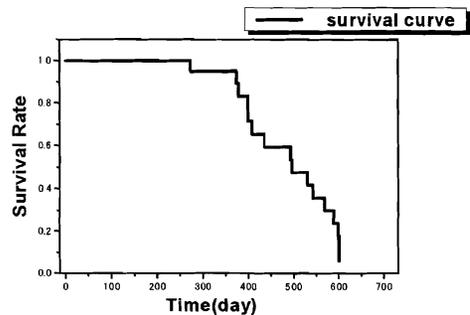


図 1. Tax 遺伝子導入マウスにおける生存曲線
Tax 遺伝子導入マウスの生存日数を計測した。生存日数は最短 238 日で最長 601 日であった。その平均値は 439 日と算出された。対照群に比較してその生存日数は短縮された。

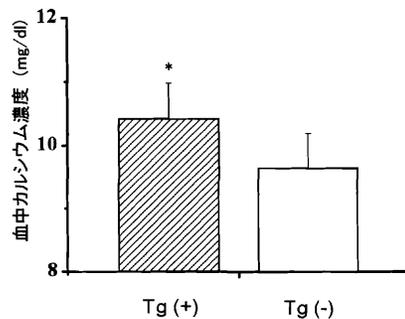


図 2. 血中カルシウム濃度の比較
Tax 遺伝子導入マウスとその対照群のマウスの血中カルシウム濃度を比較した。血中カルシウム濃度は富士ドライケム 3000 で測定した。図はカルシウム濃度の平均値±標準偏差を表し、Tax 遺伝子導入マウスでは対照群に比較して統計的に有意に (*: $p < 0.05$) 上昇していた。

なかったが、血中カルシウム濃度は遺伝子導入マウスでは 10.3mg/dl で対象群の 9.6 mg/dl に比べて有意に増加していた。末梢血液中の白血球数も増加し、白血病の特徴であるフラワーセルも確認された。

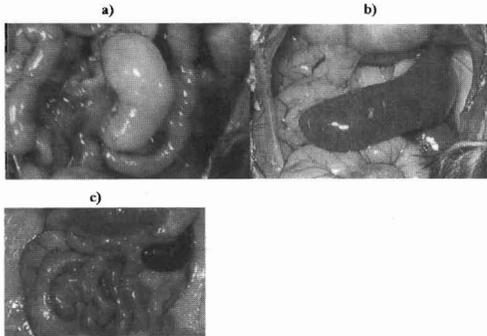


図3. Tax 遺伝子導入マウスにおける腹部解剖所見

Tax 遺伝子導入マウスにおける腹部解剖所見を示す。Tax 遺伝子導入マウスでは、全ての個体に置いて腸管膜リンパ節と脾臓の腫大が起きる。図で a) は、腸管膜リンパ節の腫大、b) は、脾臓の腫大を示す。一方、c) は対照群の腹部を示す。

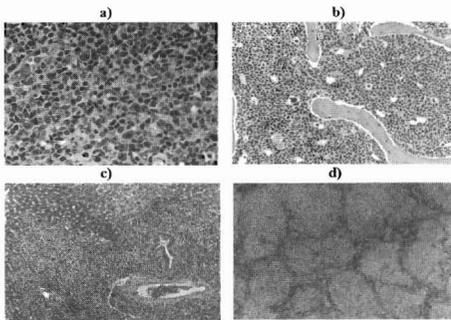


図4 Tax 遺伝子導入マウスにおける組織病理学的所見

Tax 遺伝子導入マウスにおける a) リンパ節 (x 400)、b) 骨髄 (x 400)、c) 肝臓 (x 100)と d) 脾臓 (x 100) のヘマトキシリン・エオジン染色の組織病理学的所見を示す。各臓器にリンパ腫が認められ、骨髄では血管周囲に著しいリンパ球の浸潤が認められた。

【考察】今回我々が作成した ATL モデルマウスで観察された ATL 発症時期はマウスでの発症時期は 439 日とマウスの寿命が 800 日以上であるところから、一般的な寿命から換算して、中高年に当たり、ヒトでの成人型白血病の発症の年代とよく一致した。皮膚症状も、顔、背中、等でありヒトでも上半身に多く、その症状及び発現部位が人での臨床症状とよく一致していた。また、血中カルシウムの上昇もヒトでのリンパ腫の悪性化の病態と同様であった。以上のような事実から、今回解析したマウスは成人型 T 細胞白血病リンパ腫の特徴を持つモデル動物として有用であると考えられる。

【要約】成人 T 細胞白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-1) の感染により引き起こされる致死率の高い腫瘍性疾患であるが、その病態の解明はいまだ明らかではない。その発症予防、治療法の確立のためにヒトでの病態を反映した発症モデル動物が望まれている。我々は ATL 発症モデルマウスの作成を目的として HTLV-1 の発癌に関連する遺伝子である tax 遺伝子を強発現するトランスジェニックマウスを作成し、このトランスジェニックマウスの ATLL モデルマウスとしての有用性を *in vivo* で検討した。

【文献】

1. Hasegawa H. et al. Development of Thymus-Derived T-cell Leukemia/Lymphoma in Mice Transgenic for the Tax Gene of Human T-Lymphotropic Virus Type-I (HTLV-I) *Nat Med.* 2006 Apr;12(4):466-72
2. Grossman, W.J. et al. Development of leukemia in mice transgenic for the tax gene of human T-cell leukemia virus type I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 1057-61 (1995).
3. Wildin, R.S. et al. Developmental regulation of lck gene expression in T lymphocytes. *J Exp Med* 173, 383-93 (1991).