

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 下 島 昌 幸

ネコ免疫不全ウイルス (FIV) は、ネコに免疫不全様症状を引き起こす原因体である。FIV 感染における $CD4^+$ ・ $CD8^+$ T リンパ球の解析は十分にはなされていない。本研究は、FIV 感染における T 細胞免疫応答を明らかにすることを目的とした。

実験を行なう上で有用なツールである抗体 (ネコ分子に対するもの) の充実化をまず試みた。一・二・七章では、あらかじめ標的分子を設定し、その cDNA 同定・発現・抗体作製を行なった。三章では、標的分子が不明な抗体が得られた場合を想定し、その標的分子を短時間かつ簡便に同定する方法を確立した。四章では、三章の方法が抗体以外の分子にも応用可能であることを示した。

五・六章では、得られた抗体等を用い FIV 感染ネコの末梢血 T 細胞の表面抗原および機能解析を行なった。七・八章も得られた抗体を用いて細胞株における FIV 感染について調べた。

各章の要約は以下の通りである。

一章：T 細胞表面抗原 CD2 は、T 細胞の接着や活性化に重要な分子である。ネコ CD2 cDNA を同定した。アミノ酸配列中には立体構造・細胞内シグナル伝達に重要な配列が高度に保存されていた。抗ネコ CD2 抗体 SKR2 はネコ CD2 発現細胞-ヒト赤血球間で認められるロゼット形成を阻害した。SKR2 抗体は、T 細胞に加え単球の検出にも有用であった。

二章：インテグリン αL 鎖 CD11a は T 細胞の接着に重要な分子である。T 細胞受容体 (TCR) は T 細胞の抗原特異性を規定する分子である。CD122 は IL-2 受容体を構成する β 鎖である。昆虫細胞発現ネコ CD11a を用いて抗ネコ CD11a 抗体 TMM11a を得た。ネコ TCR α および δ の定常領域にヒスタグ配列を付加して発現させた。ネコ CD122 の cDNA を同定し、同様に発現させた。これらの発現により、各分子に対する抗体作製などが容易になると考えられた。

三章：抗体が認識する細胞表面分子を同定する場合に発現クローニング法は極めて有効である。ライブラリー導入法としてレトロウイルスベクター、ライブラリー導入細胞としてミエローマ、選択法としてパンニングを用いることにより、スクリーニングを短時間かつ簡便に行う方法を確

立した。

四章：三章で確立した方法を FIV と反応する細胞表面分子の同定に応用し、FIV との結合性を有するヘルパーT 細胞活性化抗原 OX40 を同定した。OX40 はリンパ球指向性 FIV の感染に必要な分子であり、FIV 抗原特異的な CD4⁺細胞に FIV が感染することが FIV の病態の根底にあると考えられた。

五章：FIV 感染により、感染ネコの末梢血リンパ球 (PBL) には CD8β 鎖の減少した CD8⁺細胞が増加する。CD8α⁺β⁺細胞、CD8α⁺β⁻細胞および CD4⁺細胞が FIV 増殖抑制作用を持つことを明らかにした。抗 FIV 活性を主に担う細胞は個体により異なった。抑制作用の少なくとも一部は MHC 非拘束性・抗原非特異的である可能性が示された。

六章：得られた抗体等を用いて FIV 感染ネコの T PBL の表面抗原解析を行なった。CD8α⁺ PBL 中には、CD8β 鎖の発現減少を伴う CD11a 分子発現増加・細胞内顆粒増加・MHC II 分子減少を示す亜群が存在した。CD8α⁺ PBL の CD45RA 様分子の発現量は様々であった。このような表現系の多様性は CD4⁺ PBL では認められず、FIV 感染は主に CD8⁺細胞群に様々な変化を誘導するものと考えられた。

七章：CD56 (140 kDa 型神経細胞接着分子) は NK 細胞や一部の T 細胞に発現する分子である。昆虫細胞発現ネコ CD56 を用いて抗ネコ CD56 抗体を得た。ネコ CD56 分子は培養ネコ T 細胞および MYA-1 細胞株 (後述) に発現しており、また高度にシアル化されていると考えられた。ネコ CD56 がヒト CD56 と似た性状や分布を持つことを示すと考えられた。

八章：MYA-1 細胞は FIV に高感受性・IL-2 依存性のネコリンパ芽球細胞株である。長期培養により本細胞株の CD56 陽性率は増加し、CD56⁺ MYA-1 細胞は CD56⁻ MYA-1 細胞に比べより多くの FIV を産生し、また CD4 分子は FIV 感染によってより減少した。長期培養の MYA-1 細胞では、FIV による細胞変性効果の出現は起こりやすくなったが、FIV 産生量は減少した。本細胞株の培養期間の重要性が示唆された。

以上、本研究により FIV 感染制御における CD8⁺ T 細胞 (時に CD4⁺ T 細胞) の重要性や多くの T 細胞亜群の存在が示された。今後の FIV/ネコ研究の確固たる礎となるのみでなく、アレルギーや自己免疫疾患等の分野にも貢献すると考えられる。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) 論文として価値あるものと認めた。