

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09931

研究課題名(和文) 遺伝子改変マウスを用いたHTLV-1関連疾患の病態解明および新規治療法探索

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenesis of HTLV-1-related diseases and exploration of new therapeutic strategies using genetically engineered mice

研究代表者

亀田 拓郎 (Kameda, Takuro)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：30468029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトT細胞白血病ウイルス(HTLV-1)により発症する成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)の分子病態を再現したマウスモデルの作成と解析を行った。HBZトランスジェニックマウス(HBZ-Tg)では慢性炎症が認められ、生後48週までに約10%のマウスにリンパ節腫脹が認められた。ドライバー変異であるCARD11変異を導入したマウスでは、生後半年で約5割にリンパ節腫大を認めた。HBZとCARDの2重異常マウスでは、生後半年で約7割にリンパ節腫大を認め、全身諸臓器へのT細胞浸潤と生存短縮を認めた。これらのモデルを基盤にして、ATLの病態解明およびドライバー変異を標的とした新規治療法探索を継続中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界では3000万人以上のHTLV-1キャリアが存在すると推定されている。日本国内ではHTLV-1キャリアが約100万人存在し、毎年約1100人がATLを発症している。欧米では日本以上にATLは希少であるため、日本にはATLの基礎研究と治療法開発を遂行する責務がある。本研究でATLの遺伝学的基盤を踏まえて作成されたマウスモデルは、今後の新規治療の開発基盤になりうる成果である。

研究成果の概要(英文)：We created and analyzed mouse models of adult T-cell leukemia/lymphoma caused by human T-cell leukemia virus (HTLV-1). HBZ transgenic mice (HBZ-Tg) showed chronic inflammation and lymphadenopathy in about 10% of mice by 48 weeks of age. In mice transduced with a driver mutation, CARD11E626K, about 50% of the mice showed lymphadenopathy at 24 weeks of age. In mice with both HBZ and CARD11E626K, about 70% of the mice showed lymphadenopathy at 24 weeks of age. They also showed infiltration of T-cells into various organs and shortened survival. Based on these models, researches on the pathogenesis of ATL and the novel therapies targeting the driver mutation are ongoing.

研究分野：血液内科学

キーワード：ATLL HBZ CARD11 癌 シグナル伝達 ウイルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒト T 細胞白血病ウイルス(HTLV-1)キャリアの約 5%に発症する成人 T 細胞白血病・リンパ腫(ATL)は予後不良であり、現在造血幹細胞移植が治癒的治療法として行われるが、高い発症年齢(平均 67 歳)と急速な病勢進行から、実際の移植可能患者は約 2 割に留まる。また HTLV-1 関連脊髄症(HAM)は ATLL より発症年齢(平均 44 歳)が低く、排尿障害・下肢麻痺・疼痛による著しい QOL 低下を引き起こす。主にステロイドホルモンとインターフェロン α による治療が行われているが、疾患制御は不十分である。その為、HTLV-1 関連疾患の基礎研究(遺伝学的基盤の解明・モデル動物作成)や治療法開発が強く望まれている。

ATL では元来、発癌作用とともに強い免疫原性を有する TAX と、発癌作用を有しつつも免疫原性の弱い HTLV-1 bZIP factor (HBZ) の、2 種類の『プロウイルス DNA 由来産物』が病態へ深く関与することが知られていた。我々の研究グループは ATL の臨床情報と遺伝子情報を融合した過去最大規模の研究を行い、ATL では 90%以上の症例で宿主ゲノムに細胞内 NF- κ B シグナル経路の伝達分子に変異がみられることを明らかとした。

これまで、HBZ や TAX などのウイルス産物を導入したマウスモデルは作成されていたが、ATL の分子病態を忠実に再現した動物モデル、すなわち宿主ゲノム異常を反映したマウスモデルは作成されていなかった。

2. 研究の目的

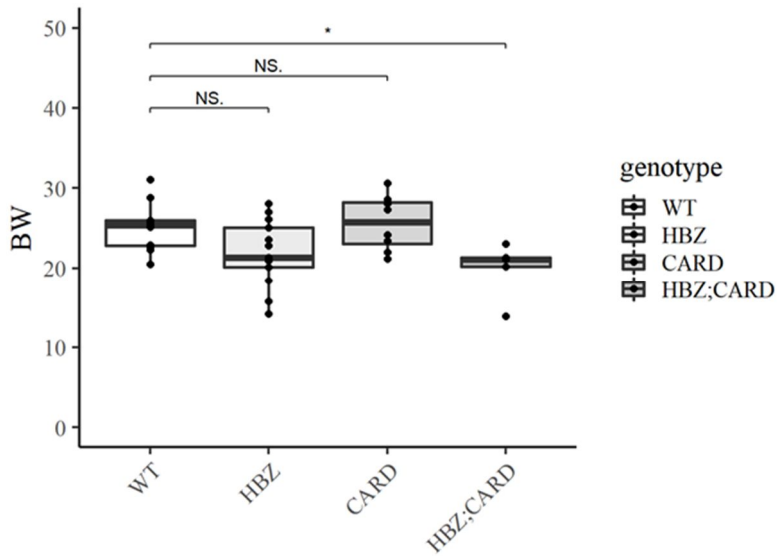
ATL は、TAX や HBZ などの『プロウイルス DNA 由来産物』と数十年におよぶ HTLV-1 の持続感染に伴う『宿主のゲノム・エピゲノム異常』に起因する、T cell の形質変化(不死化・増殖亢進・免疫機能変容)を基に発症すると考えられている。しかし、いまだその病態を忠実に再現した動物モデルはなく、多くの患者に許容可能な治癒的治療法は開発されていない。本研究では、『プロウイルス DNA 由来産物』と『宿主のゲノム・エピゲノム異常』の両方を反映した ATL マウスモデルの作成と治癒的治療法の探索を試みる。

3. 研究の方法

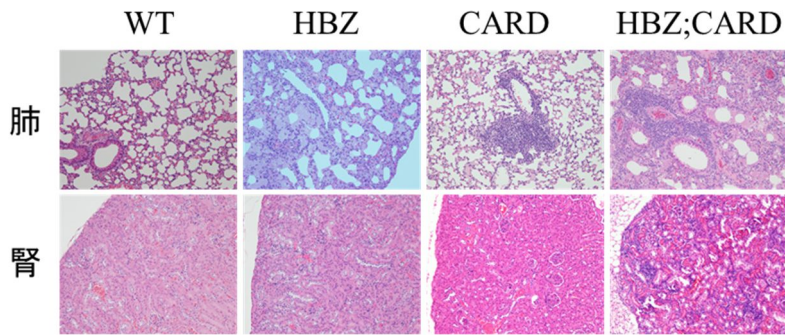
mCD4 プロモーター下流に HTLV-1 プロウイルス DNA である HBZ を導入した、HBZ トランスジェニックマウス(HBZ-Tg)を作成済みである。安定的な遺伝子発現が期待できる *Rosa26* 遺伝子座に、ATL のドライバー変異の 1 つと想定される *CARD11* 活性化型変異体を組み込むことによって組織特異的に変異体を発現誘導可能な flox マウス(*mCARD11 E626K flox* マウス)を作成済みである。また、同 flox マウスを CD4-cre マウスと交配し、ATL 同様に CD4 陽性細胞に特異的に *CARD11* 変異体を発現させた、CD4-cre/*CARD11-E626K* 2 重マウス(*CARD11E626K-KI*)を作成済みである。本研究では、HBZ-Tg、*CARD11E626K-KI*、あるいは、これらの 2 重異常マウスを解析し、ATL の病態解明と治療法開発を行う。

4. 研究成果

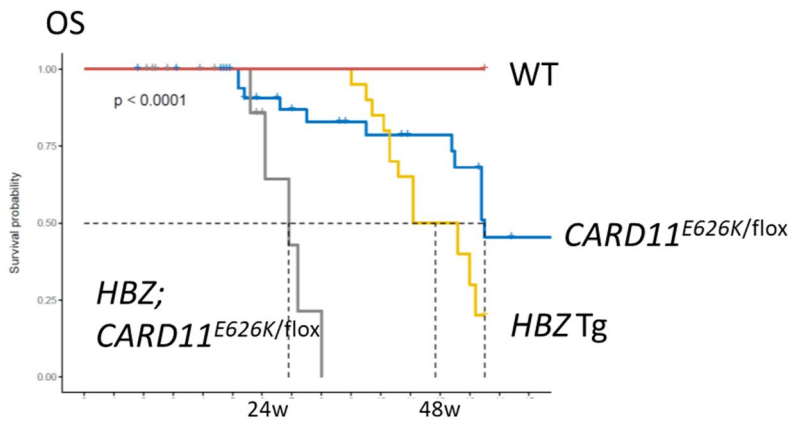
HBZ-Tg では慢性炎症が認められ、生後 48 週までに約 10%のマウスにリンパ節腫脹が認められた。ドライバー変異と想定される *CARD11* 変異を導入した *CARD11E626K-KI* では、生後半年で約 5 割にリンパ節腫大を認めた。HBZ と *CARD* の 2 重異常マウスでは、生後 24 週で体重減少を認め(図 1)、約 7 割にリンパ節腫大を認め、全身諸臓器への T 細胞浸潤(図 2)と生存短縮を認めた(図 3)。クローナリティ解析では、HBZ-Tg はポリクローナルの個体が多いが、HBZ と *CARD* の 2 重異常マウスではオリゴクローナルの個体が多く、*CARD11* 変異の付加によるクローン拡大が示唆された。また HBZ-Tg の腫大リンパ節の exon sequence では ATL でみられる遺伝子変異は生じておらず、腫大リンパ節の移植によるレシピエントマウスでのリンパ節腫大の発症もみられないことから、リンパ腫発症には付加の変異が必要であることが示唆された。これらのモデルを基盤にして、ATL の発症機序の解明およびドライバー変異を標的とした新規治療法探索を継続中である。



(図1) HBZ と CARD の 2 重異常マウスでは体重減少がみられる。



(図2) HBZ と CARD の 2 重異常マウスでは諸臓器に T 細胞浸潤がみられる。



(図3) HBZ と CARD の 2 重異常マウスでは生存短縮がみられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kamiunten Ayako, Sekine Masaaki, Kameda Takuro, Akizuki Keiichi, Tahira Yuki, Shide Kotaro, Shimoda Haruko, Kato Koji, Hidaka Tomonori, Kubuki Yoko, Shimoda Kazuya	4. 巻 36
2. 論文標題 Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with adult T-cell leukemia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hematological Oncology	6. 最初と最後の頁 651 ~ 655
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hon.2549	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sekine Masaaki, Kubuki Yoko, Kameda Takuro, Takeuchi Masanori, Toyama Takanori, Kawano Noriaki, Maeda Kouichi, Sato Seiichi, Ishizaki Junzo, Kawano Hiroshi, Kamiunten Ayako, Akizuki Keiichi, Tahira Yuki, Shimoda Haruko, Shide Kotaro, Hidaka Tomonori, Kitanaka Akira, Yamashita Kiyoshi, Matsuoka Hitoshi, Shimoda Kazuya	4. 巻 98
2. 論文標題 Effects of mogamulizumab in adult T-cell leukemia/lymphoma in clinical practice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 501 ~ 507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejh.12863	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kataoka Keisuke, Iwanaga Masako, Yasunaga Jun-ichirou, Nagata Yasunobu, Kitanaka Akira, Kameda Takuro, Shimoda Kazuya, Matsuoka Masao, Watanabe Toshiki, Ogawa Seishi	4. 巻 131
2. 論文標題 Prognostic relevance of integrated genetic profiling in adult T-cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 215 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2017-01-761874	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 6. Nakahata S, Syahrul C, Nakatake I, Sakamoto K, Yoshihama M, Nishikata I, Ukai Y, Matsuura T, Kameda T, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kitanaka A, Ito A, Takemoto S, Nakano N, Saito M, Iwanaga M, Sagara Y, Mochida K, Amano M, Maeda K, Sueoka E, Okayama A, Utsunomiya A, Shimoda K, Watanabe T, Morishita K	4. 巻 -
2. 論文標題 Clinical significance of soluble CADM1 as a novel marker for adult T-cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2019.234096	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sarkar Bidhan, Nishikata Ichiro, Nakahata Shingo, Ichikawa Tomonaga, Shiraga Toshiyuki, Saha Hasi Rani, Fujii Masahiro, Tanaka Yuetsu, Shimoda Kazuya, Morishita Kazuhiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Degradation of p47 by autophagy contributes to CADM1 overexpression in ATLL cells through the activation of NF- B	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-39424-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 1.Sarkar B, Nishikata I, Nakahata S, Ichikawa T, Shiraga T, Saha HR, Fujii M, Tanaka Y, Shimoda K, Morishita K	4. 巻 33
2. 論文標題 Molecular heterogeneity in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified revealed by comprehensive genetic profiling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 2867 ~ 2883
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-019-0473-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 亀田拓郎, 幣光太郎, 上運天綾子, 大園芳範, 関根雅明, 田平優貴, 秋月溪一, 日高智徳, 久富木庸子, 北中明, 下田和哉
2. 発表標題 マウスモデルを用いたATLLにおけるTET2欠損の役割の検討
3. 学会等名 第5回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 亀田拓郎, 片岡圭亮, 三好寛明, 幣光太郎, 北中明, 日高道弘, 宇都宮與, 柴田龍弘, 大島孝一, 川誠司, 下田和哉
2. 発表標題 臨床情報とゲノム情報を統合したaggressive ATLの予後予測
3. 学会等名 第5回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakahata S, Shimosaki S, Ichikawa T, Kameda T, Hidaka T, Kubuki Y, Kurosawa G, Shimoda K, Morishita K
2. 発表標題 High efficacy of anti-TFR1 antibody against the growth of mogamulizumab-resistant ATLL cells.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 下田和哉, 幣光太郎, 亀田拓郎, 上運天綾子, 片岡圭亮, 小川誠司, 柴田龍弘, 十時泰, 日高道弘, 宇都宮與
2. 発表標題 成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)最適化医療の確立とハイリスクキャリアの同定にむけて
3. 学会等名 平成30年度第1回班会議報告
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kameda T, Shide K, Kamiunten A, Tahira Y, Akizuki K, Sekine M, Hidaka T, Kubuki Y, Hidaka M, Utsunomiya A, Ohshima T, Kataoka K, Ogawa S, Shimoda K
2. 発表標題 TET2 Mutation Associated with Organ Infiltrations in ATLL
3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting and Exposition. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 下田和哉, 幣光太郎, 亀田拓郎, 上運天綾子, 片岡圭亮, 小川誠司, 柴田龍弘, 十時泰, 日高道弘, 宇都宮與
2. 発表標題 成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)最適化医療の確立とハイリスクキャリアの同定にむけて
3. 学会等名 平成30年度第2回班会議報告
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 下田和哉, 幣光太郎, 亀田拓郎, 上運天綾子, 片岡圭亮, 小川誠司, 柴田龍弘, 十時泰, 日高道弘, 宇都宮與
2. 発表標題 ATL移植症例における遺伝子異常の臨床的意義の検討
3. 学会等名 平成30年度第2回班会議報告
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 亀田拓郎, 下田和哉
2. 発表標題 成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)最適化医療の確立と、ハイリスクキャリアの同定
3. 学会等名 HTLV-1 関連疾患研究領域 研究班合同発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 亀田拓郎, 幣光太郎, 上運天綾子, 大園芳範, 関根雅明, 田平優貴, 秋月溪一, 下田晴子, 日高智徳, 久富木庸子, 北中明, 下田和哉
2. 発表標題 HBZ/PRKCb変異/TET2欠損の多重異常によるATLLマウスモデル作成の試み
3. 学会等名 第4回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takuro Kameda, Kotaro Shide, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Kazuya Shimoda
2. 発表標題 Effect of HBZ and PRKCbD427N in ATLL development.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 亀田拓郎, 片岡圭亮, 三好寛明, 幣光太郎, 北中明, 日高道弘, 宇都宮與, 柴田龍弘, 十時泰, 大島孝一, 小川誠司, 下田和哉
2. 発表標題 臨床情報とゲノム情報を統合した予後予測モデルによる予後良好aggressive ATL抽出の試み
3. 学会等名 第6回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaaki Sekine, Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Ayako Kamiunten, Takuro Kameda, Kotaro Shide, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Kazuya Shimoda
2. 発表標題 ATL in Miyazaki Prefecture
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 亀田拓郎, 下田和哉, 幣光太郎, 上運天綾子, 小川誠司, 片岡圭亮, 柴田龍弘, 宇都宮與, 日高道弘, 北中 明
2. 発表標題 成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)最適化医療の確立とハイリスクキャリアの同定にむけて
3. 学会等名 令和元年度第1回班会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 亀田拓郎, 下田和哉, 幣光太郎, 上運天綾子, 小川誠司, 片岡圭亮, 柴田龍弘, 宇都宮與, 日高道弘, 北中 明
2. 発表標題 成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)最適化医療の確立と、ハイリスクキャリアの同定にむけて
3. 学会等名 令和元年度第2回班会議
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 亀田拓郎、下田和哉	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 660
3. 書名 血液専門医テキスト（改訂第3版） その他の骨髄増殖性疾患	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----