

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08715

研究課題名（和文）マウスモデルによるATLL腫瘍形成メカニズムの解明と腫瘍幹細胞プロファイルの同定

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of ATLL development and identification of leukemic stem cell profiles using a mouse model

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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ウイルス遺伝子HBZを導入したマウス（HBZ TG）、TCR-NF B経路を活性化するCARD11変異を導入したマウス（CARD11 TG）、これらの異常を組み合わせたマウス（2重異常TG）を解析した。HBZ TGとCARD11 TGは緩徐な、2重異常TGは急速なリンパ増殖性疾患を発症し、これらのモデルマウスがATL病態を再現することを明らかにした。2重異常TGでは、増殖に関連するgene setの発現亢進がみられ、ヒト急性型ATL検体で見られる異常なgene setの約8割が再現されていた。TCR-NF B経路の変異に伴うNF B活性化とHBZがATL分子病態を形成することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HBZ TG、CARD11変異TG、2重異常TGの各マウスの解析から、ATLの分子病態を明らかにした（Communications Biology, Kameda et al. 2022）。2重異常TGマウスでは、ATL検体と類似したTCR/NF- B経路の活性化と、生後半年でのリンパ増殖性疾患の発症が観察され、また、CD4 T cellにおいてはヒトATL検体と類似した遺伝子発現異常が観察されたことから、ATLの基本的な分子病態の形成機序が明らかになった。今後、分子病態に即した新規治療の開発が期待される。

研究成果の概要（英文）：We analyzed mice transfected with the viral gene HBZ (HBZ TG), mice transfected with a CARD11 mutation that activates the TCR-NF B pathway (CARD11mut TG), and mice with a combination of these abnormalities (compound TG). HBZ TG and CARD11mut TG cause a slow onset of lymphoproliferative disease, and compound TG causes a rapid onset of lymphoproliferative disease with T cell infiltration of organs, and that these mouse models recapitulate ATL pathology. Compound TG showed increased expression of a variety of proliferation-related gene sets and recapitulated approximately 80% of the aberrant gene sets found in human acute type ATL specimens, suggesting that NF B activation associated with mutations in TCR-NF B pathway molecules and expression of the viral gene HBZ form the molecular basis of ATL.

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

成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATL) は、ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) の感染と、感染細胞に生じる体細胞遺伝子異常により発症すると推定されている。実際 ATL 患者では、HTLV-1 ウイルス遺伝子である *HTLV-1 bZIP factor (HBZ)* に加え、*CARD11* などの TCR-NF κ B シグナルに関わる遺伝子の異常が約 90% に検出される。しかし、*HBZ* と体細胞遺伝子異常がどのように協調して ATL を誘導するのか、その詳細なメカニズムは解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、*CARD11* 変異などの ATL でみられる遺伝子異常を導入した複数のマウスを用いて、腫瘍化機序の解明と標的治療の開発を行う。また、各種の変異マウス、ヒト検体、ヒト検体の異種移植マウスなど、複数のモデルで腫瘍幹細胞様分画の遺伝子発現解析を行い、腫瘍幹細胞様の性質がどのように維持されるのかを明らかにする。

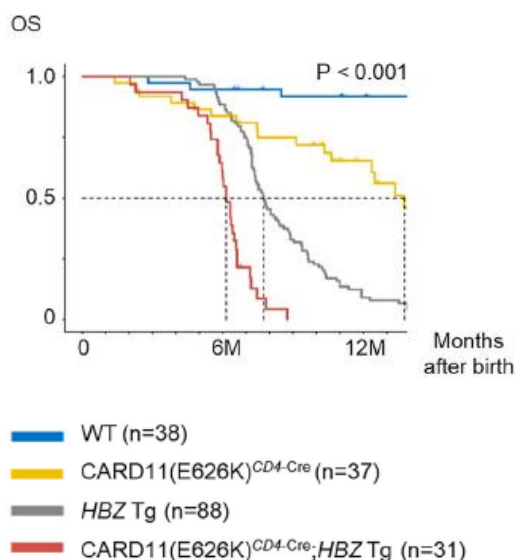
3. 研究の方法

ATL 細胞で恒常的に発現しているウイルス遺伝子 *HBZ* を CD4 T cell に導入したマウス (*HBZ* TG)、ATL で高頻度に見られる TCR-NF κ B を活性化する機能獲得型変異を CD4 T cell に導入した *CARD11(E626K)^{CD4-cre}* マウス (*CARD11* 変異 TG)、およびこれらの異常を組み合わせた *CARD11(E626K)^{CD4-cre};HBZ* TG マウス (二重異常 TG) について、表現型解析、および RNA シークエンスなどの機能解析を行う。遺伝子発現解析については、マウスの種類による遺伝子発現の違いを解釈するために、ヒト ATL 患者の遺伝子発現データを参考とした。

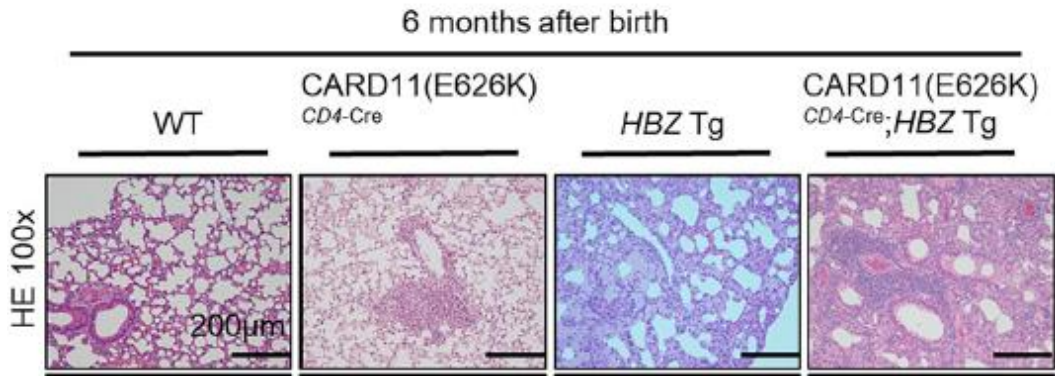
4. 研究成果

CARD11 変異 TG と二重異常 TG では T-cell の肺浸潤 (二重異常 TG でより重度)、軽度のリンパ節腫大 (*CARD11* 変異 TG 73%、二重異常 TG 81%)、生存短縮 (*CARD11* 変異 TG 13.5 カ月、二重異常 TG 6.9 カ月) を認め、これらのモデルマウスが ATL 病態を再現することを明らかにした (図 1、図 2)。CD4 T cell の RNA シークエンス解析では、*CARD11* 変異 TG では NF κ B 活性化が認められ、二重異常 TG ではさらに強い NF κ B 活性化 (特に ATL 検体に類似した non canonical 経路の NF κ B 活性化) が認められた (図 3)。二重異常 TG では単独の遺伝子異常のマウスと比較して、増殖に関連する多彩な gene set の発現がみられた。二重異常 TG ではヒト急性型 ATL 検体で見られる異常な gene set の約 8 割が再現されており、TCR-NF κ B 経路分子の変異にともなう NF κ B 活性化とウイルス遺伝子 *HBZ* が ATL 分子病態の基盤を形成することが明らかとなった。また急性型 ATL で認めるものの、二重異常 TG で再現されていない経路の 1 つとして NOTCH signaling を同定した。研究成果を論文投稿した。また本研究の成果 (ATL 病態における *CARD11* 変異のインパクト) を、ヒト ATL コホートを対象とした予後解析研究に生かし、ATL における新たな臨床遺伝学的予後モデルを報告した (図 4)。

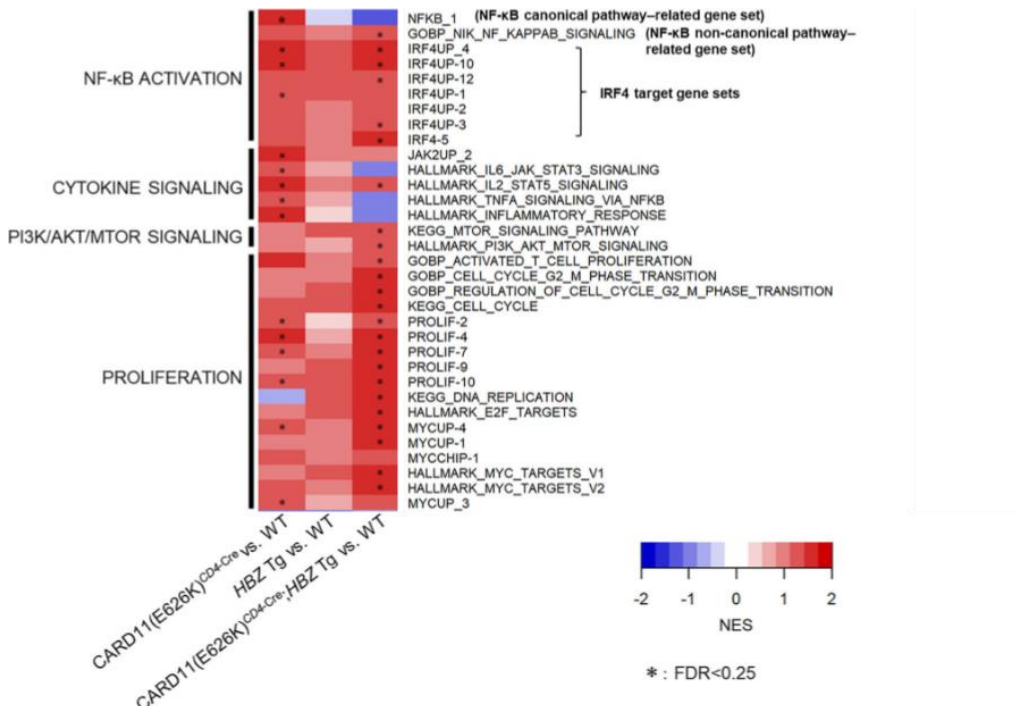
(図 1) TG マウスの生存分析



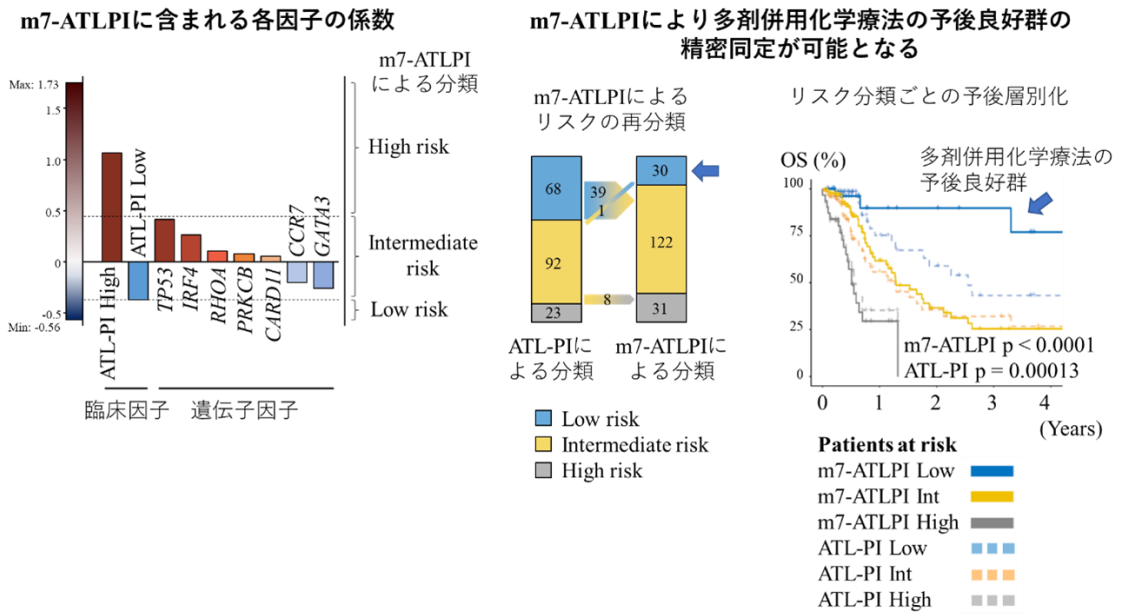
(図2) TG マウスの病理解析



(図3) TG マウスの RNA-seq 解析



(図4) 臨床情報(ATL-PI)と *CARD11* 変異などの7つの遺伝子変異情報からなる aggressive ATL の臨床遺伝学的予後モデル (m7-ATLPI)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Koya J, Saito Y, Kameda T, Kogure Y, Yuasa M, Nagasaki J, McClure MB, Shingaki S, Tabata M, Tahira Y, Akizuki K, Kamiunten A, Sekine M, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kitanaka A, Nakano N, Utsunomiya A, Togashi Y, Ogawa S, Shimoda K, Kataoka K	4. 巻 2
2. 論文標題 Single-Cell Analysis of the Multicellular Ecosystem in Viral Carcinogenesis by HTLV-1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Blood Cancer Discovery	6. 最初と最後の頁 450 ~ 467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/2643-3230.BCD-21-0044	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 Kogure Y, Kameda T, Koya J, Yoshimitsu M, Nosaka K, Yasunaga JI, Kakiuchi N, Hidaka M, Utsunomiya A, Sica RA, Acuna-Villaorduna A, Janakiram M, Shah UA, Ramos JC, Shibata T, Takeuchi K, Takaori-Kondo A, Miyazaki Y, Matsuoka M, Ishitsuka K, Shiraishi Y, Miyano S, Ogawa S, Ye BH, Shimoda K, Kataoka K.	4. 巻 139
2. 論文標題 Whole-genome landscape of adult T-cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 967 ~ 982
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/blood.2021013568	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 Kameda T, Shide K, Tahira Y, Sekine M, Sato S, Ishizaki J, Takeuchi M, Akizuki K, Kamiunten A, Shimoda H, Toyama T, Maeda K, Yamashita K, Kawano N, Kawano H, Hidaka T, Yamaguchi H, Kubuki Y, Kitanaka A, Matsuoka H, Shimoda K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Prognosis of Indolent Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 710 ~ 710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/v14040710	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 Sekine M, Kameda T, Shide K, Maeda K, Toyama T, Kawano N, Takeuchi M, Kawano H, Sato S, Ishizaki J, Kukita T, Kamiunten A, Akizuki K, Tahira Y, Shimoda H, Hidaka T, Yamashita K, Matsuoka H, Kitanaka A, Kubuki Y, Shimoda K	4. 巻 106
2. 論文標題 Higher average chemotherapy dose intensity improves prognosis in patients with aggressive adult T cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 398 ~ 407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejh.13565	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 Nakahata S, Syahrul C, Nakatake A, 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 106
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 532 ~ 542
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 Kameda T, Shide K, Kamiunten A, Kogure Y, Morishita D, Koya J, Tahira Y, Akizuki K, Yokomizo-Nakano T, Kubota S, Marutsuka K, Sekine M, Hidaka T, Kubuki Y, Kitai Y, Matsuda T, Yoda A, Ohshima T, Sugiyama M, Sashida G, Kataoka K, Ogawa S, Shimoda K.	4. 巻 5
2. 論文標題 CARD11 mutation and HBZ expression induce lymphoproliferative disease and adult T-cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-04284-x	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 Kameda T, Kataoka K, Kamiunten A, Hidaka M, Miyoshi H, Nakano N, Nosaka K, Yoshimitsu M, Yasunaga JI, Kogure Y, Shide K, Miyahara M, Sakamoto T, Akizuki K, Hidaka T, Kubuki Y, Koya J, Kitanaka A, Utsunomiya A, Ogawa S, Shimoda K.	4. 巻
2. 論文標題 Integrated genetic and clinical prognostic factors for aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2023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.2022.281510.	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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kameda T, Kataoka K, Kamiunten A, Hidaka M, Miyoshi H, Nakano N, Nosaka K, Yoshimitsu M, Yasunaga J, Kogure Y, Shide K, Miyahara M, Sakamoto T, Hidaka T, Kubuki Y, Koya J, Imaizumi Y, Kato K, Tokunaga M, Takaori A, Miyazaki Y, Akashi K, Ishitsuka K, Matsuoka M, Ohshima K, Watanabe T, Kitanaka A, Utsunomiya A, Ogawa S, Shimoda K
2. 発表標題 Integrated genetic and clinical prognostic factors for aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ayako Kamiunten, Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Masaaki Sekine, Takuro Kameda, Kotaro Shide, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Kazuya Shimoda
2. 発表標題 Loss of EZH2 does not affect the severity of murine myeloproliferative neoplasms with CALR mutation
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuro Kameda, Yasunori Kogure, Takako Yokomizo, Ayako Kamiunten, Junji Koya, Kotaro Shide, Sho Kubota, Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Masaaki Sekine, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Daisuke Morishita, Akira Kitanaka, Goro Sashida, Keisuke Kataoka, Seishi Ogawa, Kazuya Shimoda
2. 発表標題 CARD11E626K and HBZ form ATL-like gene expression profile and acceralate T-cell proliferation
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上運天綾子、森下大輔、亀田拓郎、木暮泰寛、幣光太郎、田平優貴、南谷泰仁、依田成玄、秋月溪一、関根雅明、日高智徳、久富木庸子、水谷明生、杉山緑、有川泰由、三宅洋、片岡圭亮、小川誠司、下田和哉
2. 発表標題 MALT1 阻害薬の開発とATL に対する治療効果の検討
3. 学会等名 第82 回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 亀田拓郎、幣光太郎、上運天綾子、田平優貴、秋月溪一、関根雅明、日高智徳、久富木庸子、杉山緑、森下大輔、下田和哉
2. 発表標題 ATL で好発する機能獲得型変異CARD11E626KはマウスにおけるHBZ 誘導性の炎症を亢進させる
3. 学会等名 第82 回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根雅明、亀田拓郎、幣光太郎、前田宏一、外山孝典、河野徳明、武内正紀、河野浩、佐藤誠一、石崎淳三、久木田稔正、上運天綾子、秋月溪一、田平優貴、下田晴子、日高智徳、山下清、松岡均、下田和哉
2. 発表標題 化学療法 dose intensity と mogamulizumab 投与が aggressive ATLL の予後を改善する
3. 学会等名 第82 回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古屋淳史、斎藤優樹、亀田拓郎、木暮泰寛、Marni McClure、新垣清登、吉藤康太、田畑真梨子、上運天綾子、幣光太郎、下田和哉、片岡圭亮
2. 発表標題 マルチオミクス単一細胞解析による HTLV-1 感染状態および ATL における細胞動態の網羅的解明
3. 学会等名 第82 回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kogure Y, Kameda T, Koya J, Kamiunten A, Shide K, Hidaka T, Kubuki Y, Yoshimitsu M, Nosaka K, Imaizumi Y :
2. 発表標題 Whole-Genome Analysis of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma
3. 学会等名 62nd ASH Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koya J, Saito Y, Kameda T, Kogure Y, Marni B McClure, Shingaki S, Tabata M, Kamiunten A, Shide K, Shimoda K :
2. 発表標題 Dissecting Multicellular Ecosystems of HTLV-1 Infection and ATL By Multi-Omics Single Cell Analysis
3. 学会等名 62nd ASH Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kameda T, Shide K, Kamiunten A, Yuki T, Sekine M, Akizuki K, Hidaka T, Kubuki Y, Sugiyama M, Morishita D :
2. 発表標題 CARD11 Mutation Induces Oligoclonal Expansion of T-Cells, and Accelerates ATL Development in Combination with HBZ
3. 学会等名 62nd ASH Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kameda T, Kataoka K, Kamiunten A, Hidaka M, Miyoshi H, Nakano N, Nosaka K, Yoshimitsu M, Yasunaga J, Kogure Y, Shide K, Miyahara M, Sakamoto T, Hidaka T, Kubuki Y, Koya J, Imaizumi Y, Kato K, Tokunaga M, Takaori A, Miyazaki Y, Akashi K, Ishitsuka K, Matsuoka M, Ohshima K, Watanabe T, Kitanaka A, Utsunomiya A, Ogawa S, Shimoda K
2. 発表標題 Integrated genetic and clinical prognostic factors for aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------