

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06925

研究課題名(和文) 発症危険度を峻別する新規ATLバイオマーカーの同定と臨床検体における評価

研究課題名(英文) Identification of novel ATL biomarkers for stratifying onset risk and evaluation in clinical specimens

研究代表者

伊波 英克 (Iha, Hidekatsu)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：50242631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ATL細胞に対するDNAマイクロアレイ解析からATL細胞とTregとで顕著な差異を示す20の遺伝子を特定し、上位5種類(CADM1・Tex19・ID1・HoxB9・MEIS2)の遺伝子をATLバイオマーカーとして評価した。CADM1は悪性化と並行して誘導；ID1・Tex19はすべての悪性型で恒常発現；HoxB9・MEIS2は急性型ATLでのみ発現と3グループに分類された。全ATL亜型誘導性のTex19・ID1はATL発症リスクマーカーとして、急性型ATL限定のHoxB9・MEIS2は疾患進行の予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回新たに特定した2つの異なるサブセットのATL新規バイオマーカーはATL発症リスクマーカーとして、または疾患進行の予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。臨床標本を用いたさらなる研究が必要だが、定量的バイオマーカーの特定はATLの発症リスクを診断し、各患者に適切な治療オプションを提供する用途が期待される。

研究成果の概要(英文)：Twenty genes showing significant differences between ATL cells and Treg cells were identified through DNA microarray analysis of ATL cells. The top five genes (CADM1, Tex19, ID1, HoxB9, MEIS2) were evaluated as ATL biomarkers. CADM1 showed induction parallel to malignancy progression; ID1 and Tex19 exhibited constant expression across all malignant types; and HoxB9 and MEIS2 were expressed only in acute-type ATL, categorizing them into three groups. Inducible Tex19 and ID1 across all ATL subtypes suggest their role as ATL onset risk markers, while HoxB9 and MEIS2, limited to acute-type ATL, hint at their potential as prognostic markers for disease progression.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：成人T細胞白血病 トランスクリプトーム 発症リスク 予後予測

1. 研究開始当初の背景

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) への感染が原因で発症する成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATL) は極めて難治性の血液腫瘍であり、根治的治療法や ATL 発症危険度を特定する診断技術は確立されていない。HTLV-1 キャリアが体調の不具合を訴えて初めて ATL 発症を診断する事例も少なからず報告されている。

ATL 細胞は免疫抑制性の制御性 T 細胞 (Treg: CD4/CD25 陽性 T 細胞) と極めて類似する細胞特性を有するため、発症者は免疫機能の低下を来し種々の合併症を発症する。

2. 研究の目的

HTLV-1 キャリアの約 5% で発症する ATL の早期または発症前リスク診断に寄与するバイオマーカーの同定が本研究の目的である。健康人由来の CD4/CD25 陽性 T 細胞と ATL 細胞株との DNA マイクロアレイ比較解析から複数の ATL 細胞特異的発現遺伝子を予め同定した。その中から「元来組織特異性が高く、ATL 細胞で異所性の発現誘導が見られる遺伝子群」を選別し、臨床検体を用いて上記遺伝子群の発現プロファイル定量解析し、「ATL 発症危険度、治療後の再発危険度を早期に発見しうる」遺伝子セットを確定する。

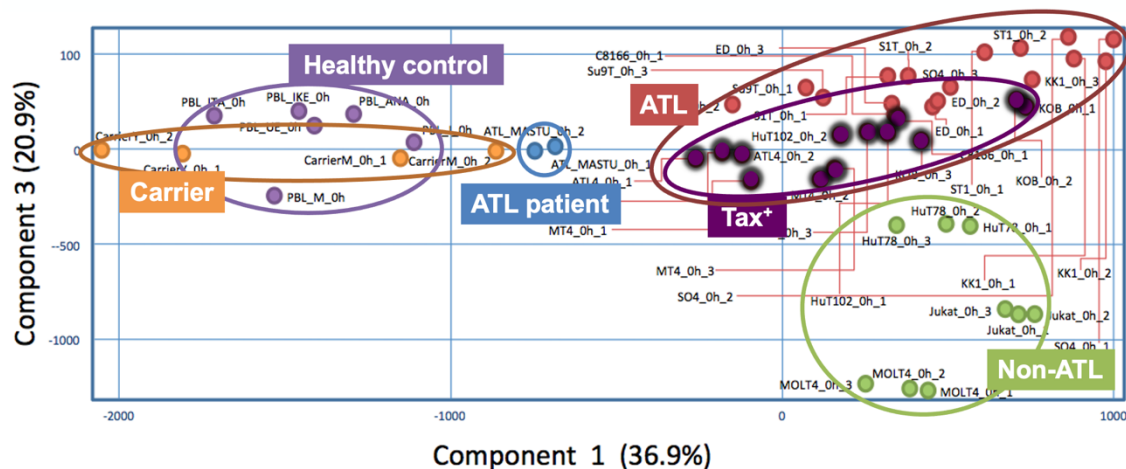


図 1. DNA マイクロアレイによる ATL 細胞特異的 mRNA 発現解析. ATL 細胞群 (赤・濃紺)、非 ATL 血液腫瘍細胞群 (緑)、健康人 Treg (紫) は 3 つのクラスターを形成した。未発症 HTLV-1 キャリア (黄) は健康人 Treg 近傍、ATL 患者 PBL は健康人 Treg と ATL 細胞群の中間に位置する。

3. 研究の方法

DNA マイクロアレイで 13 種類の ATL 関連細胞株および CD4/CD25 陽性細胞に対する ATL 特異的遺伝子セットを同定後 (図 1)、ATL 細胞特異的発現誘導上位 20 遺伝子をリスト化した (表 1)。これらの情報を元に、65 の臨床検体 (ATL 患者 PBL 20 例、無症候性 HTLV-1 キャリア PBL 20 例、HAM 患者 PBL 20 例、HU 患者 PBL 10 例: JSAPFAD より提供) と、5 種類の健康人 Treg について、ATL 関連細胞株で選別された上位 5 遺伝子 (TEX19, UTS2B, MEIS2, VGLL3, HOXB9) と既知のマーカー (CADM1) の発現動態を RT-qPCR 及びウェスタンブロットにて解析した。さらに 3 種類の IMiDs または HSP90 阻害剤 (TAS116) 処理後の同遺伝子群の発現変動を解析した。

表 1. ATL 細胞誘導上位 20 遺伝子

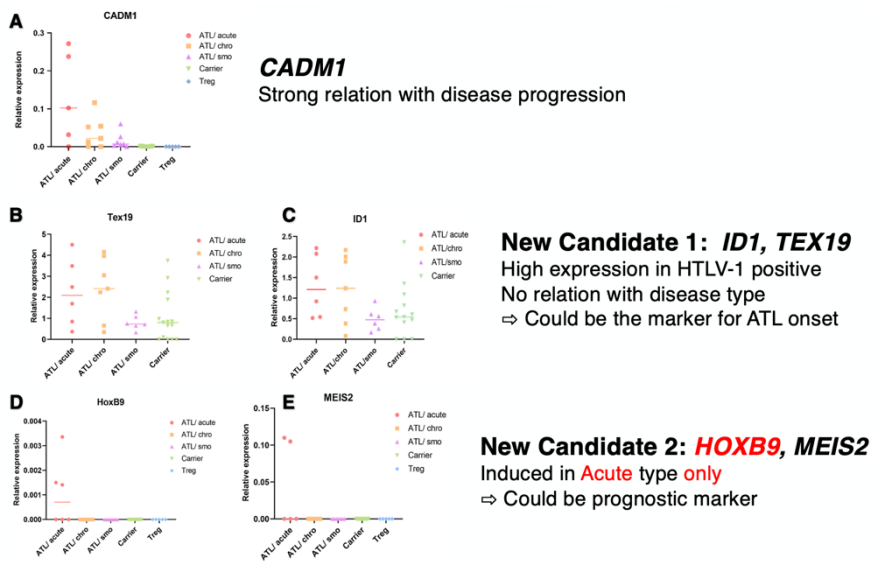
Gene name	Fold induction	Average values		Fold induction
	vs Treg	ATL	Treg	vs non-ATL
1 TEX19	261.2	3848.75	14.73	10.6
2 UTS2D	187.6	1874.82	9.99	257.0
3 MEIS2	76.8	598.99	7.80	27.4
4 VGLL3	71.5	734.31	10.27	108.7
5 HOXB9	70.6	11566.17	163.76	n.d.
6 CADM1	67.4	11982.85	177.67	66.9
7 OTX1	59.5	1050.62	17.66	n.d.
8 CADM1	58.8	473.36	8.05	18.6
9 HOXC9	58.3	504.93	8.66	n.d.
10 IL22RA1	55.9	386.15	6.91	27.4
11 C19orf51	55.4	906.32	16.37	n.d.
12 LOC100130275	54.1	637.55	11.8	9.5
13 SATB2	47.7	753.06	15.79	n.d.
14 LINC00461	42.6	343.55	8.07	10.0
15 EML1	40.3	414.78	10.29	n.d.
16 HOXB8	39.1	329.67	8.44	n.d.
17 GREB1	37.7	251.01	6.66	5.0
18 LOC645249	35.6	607.03	17.06	n.d.
19 LPHN2	29.3	234.99	7.02	3.8
20 KAZALD1	32.1	3648.01	113.55	n.d.

4. 研究成果

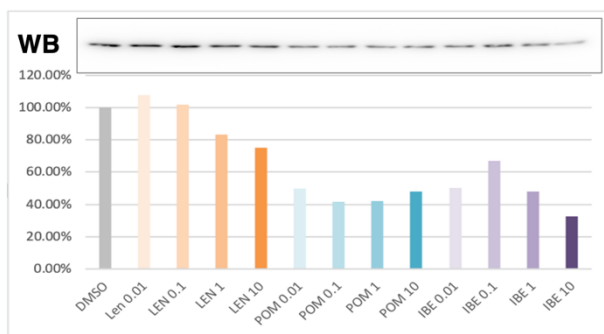
ATL 細胞に対する DNA マイクロアレイ解析から ATL 細胞と Treg とで顕著な差異を示す 20 の遺伝子を特定し、上位 5 種類 (TEX19, UTS2B, MEIS2, VGLL3, HOXB9) の新規 ATL バイオマーカーとしての有効性について、既知マーカーの CADM1 と比較検討した (図 2)。CADM1 は検体の臨床像 (悪性化) に平行して発現強度の増加が見られた (図 2A)。TEX19・ID1 はすべての ATL

病型において恒常的な発現誘導が観察され(図 2B,C)、HOXB9・MEIS2 は急性型 ATL でのみ発現の増強が観察された(図 2D,E)。UTS2B は臨床検体において発現は観察されなかった。

**図 2. ATL 細胞特異的 5 遺伝子の臨床検体における mRNA 発現様式。** 健康人 Treg(青)、未発症 HTLV-1 キャリア末梢血(緑)、くすぶり型(桃)、慢性型(橙)、急性型(赤) ATL 患者末梢血における各マーカー遺伝子の発現様式。



ATL 全亜型で誘導性の **TEX19**・**ID1** は ATL 発症リスクマーカーとして、急性型 ATL に発現誘導が限定された **HOXB9**・**MEIS2** は病状進行の予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。**HOXB9** は抗 ATL 薬 (IMiDs) 投与後の蛋白質発現の有意な低下が観察された事(図 3)や、他グループから急性骨髄性白血病での過剰発現が報告されたことなどから、マーカーとしての機能をさらに解析予定である。



**Signal quantitation of HoxB9 expressed in KOB w/w. IMiDs (LEN/POM/IBE) treatment (ImageQuant800).**

**図 3. HoxB9 蛋白質の ATL 細胞内の発現と IMiDs 投与後の発現抑制。** ATL 細胞株 KOB に 3 種類の IMiDs(レナリドミド:LEN; ポマリドミド:POM; イベルドミド:IBE)投与 3 日後に細胞を回収、ライゼートを SDS-PAGE 後に抗 HoxB9 抗体にてウエスタンブロット解析した。シグナル強度は ImageQuant800 にて定量化した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Wada Y, Sato T, (18 authors), Nakahata S, Iha H, Ogata M, Muramatsu M, Imaizumi Y, Uchimar K, Miyazaki Y, Konnai S, Yanagihara K, Morishita K, Watanabe T, Yamano Y, Saito M.	4. 巻 5
2. 論文標題 RAISING is a high-performance method for identifying random transgene integration sites	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 535-535
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-022-03467-w	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 Mori Daisuke, John Jecelyn Leaslie, Sabri Shahnaz Irwani Binti, Shaharom Saliz Mazrina Binti, Iha Hidekatsu, Yamaoka Yoshio, Matsumoto Takashi, Ahmed Kamruddin	4. 巻 2
2. 論文標題 Seroepidemiological survey of the prevalence of Helicobacter pylori infection in Sabah, Malaysia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IJID Regions	6. 最初と最後の頁 126 ~ 129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijregi.2021.12.012	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 該当する
1. 著者名 Ikebe Emi, Shimosaki Shunsuke, Hasegawa Hiroo, Iha Hidekatsu, Tsukamoto Yoshiyuki, Wang Yu, Sasaki Daisuke, Imaizumi Yoshitaka, Miyazaki Yasushi, Yanagihara Katsunori, Hamaguchi Isao, Morishita Kazuhiro	4. 巻 113
2. 論文標題 TAS 116 (pim1espb), a heat shock protein 90 inhibitor, shows efficacy in preclinical models of adult T cell leukemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 684 ~ 696
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15204	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 Wang Yu, Shimosaki Shunsuke, Ikebe Emi, Iha Hidekatsu, Yamamoto Jun-ichi, Fife Nichole, Ichikawa Tomonaga, Hori Mitsuo, Ogata Masao, Tsukamoto Yoshiyuki, Hijiya Naoki, Moriyama Masatsugu, Hagiwara Shotaro, Kusano Shuichi, Saito Masumichi, Ahmed Kamruddin, Nishizono Akira, Handa Hiroshi, Morishita Kazuhiro	4. 巻 13
2. 論文標題 IMiD/CELMoD-induced growth suppression of adult T-cell leukemia/lymphoma cells via cereblon through downregulation of target proteins and their downstream effectors	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 1272528
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fonc.2023.1272528	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 Wang Yu, Iha Hidekatsu	4. 巻 14
2. 論文標題 The Novel Link between Gene Expression Profiles of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma Patients ' Peripheral Blood Lymphocytes and Ferroptosis Susceptibility	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 2005 ~ 2005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes14112005	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 Osada Naoki, Kikuchi Jiro, Iha Hidekatsu, Yasui Hiroshi, Ikeda Sho, Takahashi Naoto, Furukawa Yusuke	4. 巻 13
2. 論文標題 c FOS is an integral component of the IKZF1 transactivator complex and mediates lenalidomide resistance in multiple myeloma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 e1364.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ctm2.1364	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 Sudo Haruka, Tonoyama Yasuhiro, Ikebe Emi, Hasegawa Hiroo, Iha Hidekatsu, Ishida Yo-ichi	4. 巻 138
2. 論文標題 Proteomic analysis of adult T-cell leukemia/lymphoma: A biomarker identification strategy based on preparation and in-solution digestion methods of total proteins	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Leukemia Research	6. 最初と最後の頁 107454 ~ 107454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.leukres.2024.107454	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 Ichikawa Tomonaga, Suekane Akira, Nakahata Shingo, Iha Hidekatsu, Shimoda Kazuya, Murakami Takashi, Morishita Kazuhiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Inhibition of PRMT5/MEP50 Arginine Methyltransferase Activity Causes Cancer Vulnerability in NDRG2low Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2842 ~ 2842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms25052842	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8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hidekatsu Iha, Shanaz Irwani Binti Sabri, Omar Kwang Kugan, Saliz Mazrina Binti Shaharom, Mohammad Saffree Jeffree, Kimberly Fornace, Daisuke Mori, Takaaki Yahiro, Isao Hamaguchi, Toshiaki Watanabe, Timothy William, Chris J. Drakeley, Akira Nishizono, Kamruddin Ahmed.
2. 発表標題 Epidemiological evidence of human T-lymphotropic virus type 1 prevalence in the northern area of Borneo, Malaysia: The latest update in 2022.
3. 学会等名 第63回日本熱帯医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu Wang, Hidekatsu Iha
2. 発表標題 Distinct antitumor effects of Iberdomide against Adult T-Cell Lymphoma/Leukemia (ATL) cells
3. 学会等名 International Conference on Human Retrovirology: HTLV 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Emi Ikebe, Sahoko Matsuoka, Makoto Nakashima, Hiromi Muraoka, Chihoko Yoshimura, Makoto Yamagishi, Kaoru Uchimaru, Hidekatsu Iha, Isao Hamaguchi.
2. 発表標題 NEDD8 activating enzyme is a novel therapeutic target for HTLV-1-related diseases
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 Hidekatsu Iha, Emi Ikebe, Shunsuke Shimosaki, Hiroo Hasegawa, Yoshiyuki Tsukamoto, Yu Wang, Daisuke Sasaki, Yoshitaka Imaizumi, Yasushi Miyazaki, Katsunori Yanagihara, Isao Hamaguchi, Kazuhiro Morishita.
2. 発表標題 TAS-116 (pimipib), a heat shock protein 90 inhibitor, shows efficacy in preclinical models of adult T-cell leukemia.
3. 学会等名 第8回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Emi Ikebe, Sahoko Matsuoka, Makoto Nakashima, Hiromi Muraoka, Chihoko Yoshimura, Makoto Yamagishi, Kaoru Uchimar, Hidekatsu Iha, Isao Hamaguchi.
2. 発表標題 Efficacy of NEDD8 Activating Enzyme Inhibitors in HTLV-1-related disease
3. 学会等名 第8回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊波英克
2. 発表標題 プレジジョン・メディスンによる成人T細胞白血病発症リスクの新規診断技術開発
3. 学会等名 バイオジャパン2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Emi Ikebe, Shunsuke Shimosaki, Yoshiyuki Tsukamoto, Mitsuo Hori, Shotaro Hagiwara, Shuichi Kusano, Masumichi Saito, Shuji Uno, Ken-ichi Minehata, Atsushi Suzuki, Kazuhiro Morishita, Hidekatsu Iha
2. 発表標題 Distinct antitumor effects of Iberdomide against Adult T-Cell Lymphoma/Leukemia (ATL) cells.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王宇
2. 発表標題 Identification and validation of the novel ATL biomarkers
3. 学会等名 第9回日本HTLV-1学会学術集
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大分大学グローバル感染症研究センター  
<https://www.oita-global.jp>

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
研究分担者	緒方 正男  (Ogata Masao)  (10332892)	大分大学・医学部・教授   (17501)	
研究分担者	萩原 将太郎  (Hagiwara Shotaro)  (50306635)	東京女子医科大学・医学部・非常勤講師   (32653)	

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
---------	---------