

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 2日現在

機関番号：10101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23790430
 研究課題名（和文） 周囲組織環境との相互作用による ATL 細胞のサバイバル機序の解明
 研究課題名（英文） Protective Roles of Epithelial Cells in the Survival of Adult T-Cell Leukemia Cells
 研究代表者
 宮武 由甲子（MIYATAKE YUKIKO）
 北海道大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：10421984

研究成果の概要（和文）：成人 T 細胞白血病（ATL）は、表皮や消化管上皮等への強い浸潤性や治療抵抗性を示す極めて予後不良な末梢性 T 細胞腫瘍である。我々は ATL 細胞が正常上皮細胞との接着によって「がん幹細胞様の特性」を獲得し、結果的に「がん細胞の温存」へとつながっているという新しい概念を確立した。これは ATL のみならず、他の難治性造血器腫瘍に対する治療抵抗性の克服にも十分応用可能であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Adult T-cell leukemia (ATL) is a highly invasive and intractable T-cell malignancy caused by HTLV-1 infection. We demonstrate here that normal tissue-derived epithelial cells (NECs) exert protective effects on the survival of leukemic cells, which may partially account for high resistance to anti-leukemic therapies in ATL patients. A propensity of leukemia cells to infiltrate into epithelial tissues might produce at least two pathologic outcomes in ATL patients: the survival of leukemia cells through acquisition of cancer stem cell-like phenotypes and the evasion of the host immune response.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：実験病理学

キーワード：ウイルス感染症、HTLV-1

1. 研究開始当初の背景

ヒト T 細胞白血病ウイルス - 1 (HTLV-1) は、成人 T 細胞白血病 (ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) などの疾患を引き起こす。ATL はその非常に強い皮膚などへの臓器浸潤性や化学療法抵抗性によって未だ有効な治療法が確立されておらず、現在、HTLV-1 濃感染国である我が国において、極めて予後の悪い白血病の一つとなっている。よって、

ATL の有効な治療法を確立するためには、このような治療抵抗性を獲得するメカニズムを解明して詳細に理解することが不可欠である。

ATL 患者から単離されたばかりの ATL 細胞は、HTLV-1 の発現はごくわずかであるにも関わらず、IL-2 などのサイトカインで活性化しなければ培養維持するのは困難である。このことは、ATL 細胞はそれ自身のウイルス

に対する防御力だけではサバイバルに困難な状態に陥ってしまうことを示唆する。

申請者は留学中に、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDAC インヒビター) を用いて、ATL 患者から分離された白血病細胞 (ATL 細胞) の HTLV-1 LTR の転写活性を賦活化させた場合、ヒト胎児腎細胞由来の 293T 細胞のような間質系細胞との共培養によって、ATL 細胞ではその賦活化が抑制されること、さらに、ATL 細胞は、間質系細胞と接着を介して共存したとき、HDAC インヒビターによって誘導されるアポトーシスを回避するという現象を見出した。

以上より、ATL 細胞と周囲組織環境を形成する間質系細胞との接着を介した細胞間相互作用は、ATL の強い臓器浸潤性および治療抵抗性獲得のメカニズム、さらには、HTLV-1 感染者での長期間に及ぶウイルス感染細胞の保持にも深く関与してきているのではないかとこの仮説を立てた。このような ATL 細胞-間質系細胞の相互作用の分子メカニズムを解明し詳細を理解することは、ATL における治療抵抗性を打破できるばかりではなく、ATL をはじめとする HTLV-1 感染症の病態の解明にも繋がるものと考えた。

2. 研究の目的

成人 T 細胞白血病 (ATL) は、非常に強い臓器浸潤性や化学療法抵抗性により、未だ有効な治療法が確立されておらず、我が国での極めて予後不良な白血病の一つである。申請者は留学中に、ATL 患者から分離された白血病細胞 (ATL 細胞) が間質系細胞との接着によって、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤によって誘導される細胞死に対して非常に強い抵抗性を獲得しているという現象を見出した。本研究では、間質系細胞への接着による ATL 細胞の細胞死の回避を決定づける分子メカニズムを解明し、ATL 細胞とその周囲組織環境との相互作用の阻止を考慮した新しい ATL 治療コンセプトの確立を目指した。

3. 研究の方法

本研究は、HTLV-1 賦活化状態の ATL 細胞における、間質系細胞への接着、非接着によって決定づけられるアポトーシスの分子メカニズムを解明し、その細胞間相互作用を阻止することによって、周囲組織環境下における ATL 細胞への HDAC インヒビターによる効率的なアポトーシスの誘導を試みた。

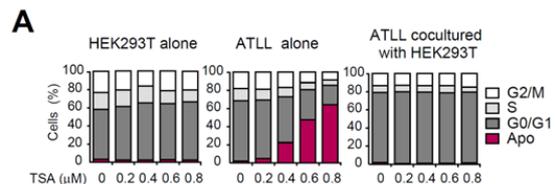
平成 23 年度は、ATL 細胞に高発現する細

胞の遊走および接着に関わる分子の ATL 細胞 - 間質系細胞の相互作用への関連性の検討と候補分子の同定、細胞接着のための足場喪失によって起こるアポトーシスとの関連性を、細胞蛍光抗体法、共焦点レーザー顕微鏡、フローサイトメトリー法を用いて検討した。

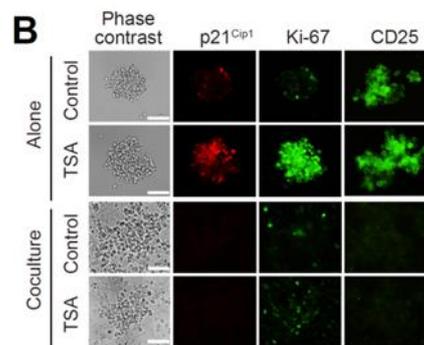
平成 24 年度は、正常上皮細胞との接着によって誘導される CD44 強陽性 ATL 細胞におけるがん幹細胞様特性を詳細に解析すると同時に、そのがん幹細胞様表現型をより明確にし、それに関わるシグナル伝達経路の同定を行った。さらに、ATL のみならず他の治療抵抗性の造血管腫瘍に対しても応用可能な新規治療コンセプトを確立するために最適な治療標的分子の同定を試みた。

4. 研究成果

ATL 細胞は正常上皮細胞との接着によって、HDAC 阻害剤で誘導されるアポトーシスを阻止し (図 A)、さらに NKG2D を介した NK 細胞による細胞傷害を抑制することを明らかとした。

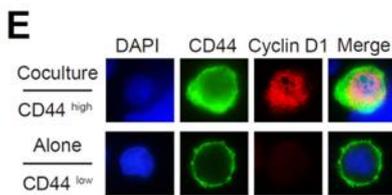
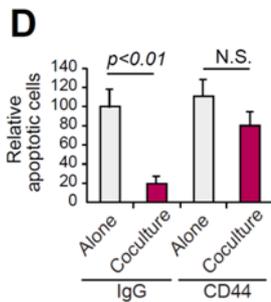
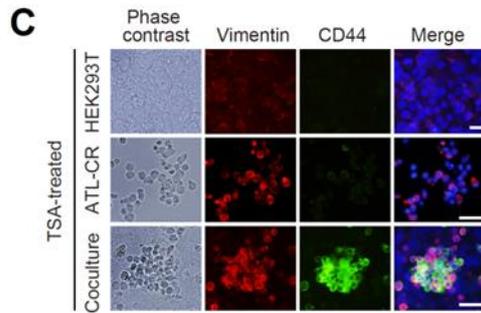


正常上皮接着 ATL 細胞では、p21^{Cip1} や CD25 の発現抑制 (図 B)、細胞周期静止期細胞が増加した。

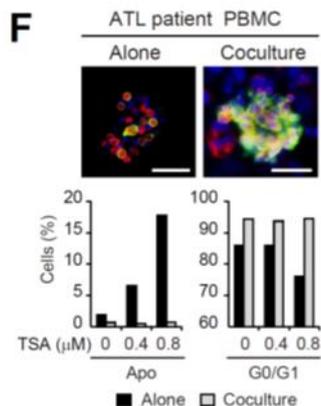


正常上皮細胞上にコロニーを形成する ATL 細胞の一部には、CD44 やビメンチンの発現亢進 (図 C) や細胞内 CD44 とサイクリン

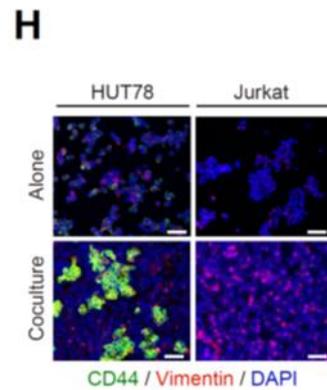
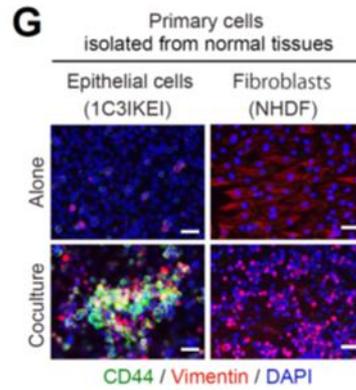
D1 の核移行を認めた (図 E)。また、CD44 中和抗体により正常上皮接着によるアポトーシス回避は阻害された (図 D)。



ATL 患者から分離した新鮮 PBMC でもこの現象は認められた (図 F) が、線維芽細胞との相互作用ではこのような現象は起こらなかった (図 G)。



ATL 細胞のみならず皮膚悪性リンパ腫由来 T 細胞株 (Hut-78) においても同様の現象が起こることを確認した (図 H)。(図は Am J Pathol, 2013, in press より抜粋)



以上の結果より、正常上皮細胞の宿主保護作用が結果的に ATL の病態の進展を助長している可能性が示唆された。ATL 細胞が正常上皮細胞との接着によって「がん幹細胞様の特性」を獲得し、結果的に「がん細胞の温存」へとつながっているという新しい概念は、ATL のみならず、他の難治性造血器腫瘍に対する治療抵抗性の克服にも応用可能であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Miyatake, Y., Oliveira, A. L. A., Jarboui, M. A., Ota, S., Tomaru, U., Teshima, T., Hall, W. W. and Kasahara, M. Protective roles of epithelial cells in the survival of adult T-cell leukemia/lymphoma cells. Am. J. Pathol.

182: S0002-9440(13)00099-0, 2013. (査読有)

- ② Tomaru, U., Takahashi, S., Ishizu, A., Miyatake, Y., Gohda, A., Suzuki, S., Ono, A., Ohara, J., Baba, T., Murata, S., Tanaka, K. and Kasahara, M. Decreased proteasomal activity causes age-related phenotypes and promotes the development of metabolic abnormalities. *Am. J. Pathol.* 180: 963-972, 2012. Doi: 10.1016/j.ajpath.2011.11.012. (査読有)

[学会発表] (計 14 件)

- ① Mohamed, R. H., Sutoh, Y., Otsuka, N., Miyatake, Y. and Kasahara, M.: Inactivation of Skint1 in hominoids but not in Old World monkeys. 第 32 回日本胸腺研究会, 北海道大学 (札幌市), 2013.2.9
- ② 山本菜見子, 大塚紀幸, 宮武由甲子, 吉田 繁, 笠原正典: 胎盤形成と妊娠維持への NKG2D リガンドの関与. 第 27 回日本生殖免疫学会, 大阪医科大学 (高槻市), 2012.12.8
- ③ Miyatake, Y., Tomaru, U., Hall, W. W. and Kasahara, M.: Contact with epithelial cells induces cancer stem cell-like properties in adult T-cell leukemia/lymphoma cells. 第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸国際展示場 (兵庫県), 2012.12.7
- ④ Rania, H. M., Yoshida, S., Miyatake, Y., Otsuka, N. and Kasahara, M.: Involvement of an NKG2D ligand H60c in epidermal dendritic T cell-mediated wound repair. 第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸国際会議場 (兵庫県), 2012.12.5
- ⑤ 山本菜見子, 大塚紀幸, 宮武由甲子, 吉田 繁, 笠原正典: 胎盤形成と妊娠維持への NKG2D リガンドの関与. 第 45 回北海道病理談話会, 札幌医科大学 (札幌市), 2012.10.13
- ⑥ 宮武由甲子, 外丸詩野, 笠原正典: 上皮細胞は接着している成人 T 細胞白血病細胞を細胞静止状態にして保護する. 第 71 回日本癌学会学術総会, ロイトン札幌 (北海道), 2012.9.19
- ⑦ 宮武由甲子, Andre, L. A. O, Noreen, S., 大塚紀幸, 外丸詩野, Hall, W. W., 笠原正典: 成人 T 細胞白血病における上皮細胞の潜在的役割. 第 92 回北海道医学大会, 北海道大学 (札幌市), 2012.9.8
- ⑧ Sutoh, Y., Kasamatsu, J., Otsuka, N., Miyatake, Y. and Kasahara, M. VLRC defines a population of lamprey lymphocytes distinct from that expressing VLRA or VLRB. The 12th International Congress of the International Society for Developmental and Comparative

Immunology, Fukuoka (Hilton Fukuoka Sea Hawk Hotel), 2012.7.10

- ⑨ 宮武由甲子, 外丸詩野, Noreen Sheehy, 石津明洋, William W. Hall, 笠原正典: 成人 T 細胞白血病 (ATL) の病態における上皮細胞の役割の検討. 第 101 回日本病理学会総会, 京王プラザホテル (東京都), 2012.4.28
- ⑩ Miyatake, Y., Tomaru, U., Oliveira, L.A., Sheehy, N., Hall, W.W. and Kasahara, M. New insights into cell-cell interactions between adult T-cell leukemia cells and endothelial cells. The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases. Molecular Pathogenesis and Translational Research in Leukemia and Lymphoma. Tokyo (The University of Tokyo), 2011.9.15-17
- ⑪ Miyatake, Y., Tomaru, U., Oliveira, A.L., Sheehy, N., Yoshiki, T., Kasahara, M. and Hall, W.W. Stromal cells help ATL cells to escape from apoptosis induced by histone deacetylase inhibitors *Retrovirology* 2011 8(Suppl 1), 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Retroviruses Leuven, Belgium (2011.6.5-8)
- ⑫ 外丸詩野, 高橋里美, 宮武由甲子, 小野綾子, 小原次郎, 紺野沙織, 村田茂穂, 田中啓二, 石津明洋, 笠原正典: プロテアソーム機能に着目した老化, 脂質代謝異常の病態解明. 第 44 回北海道病理談話会, 旭川市国際会議場 (北海道), 2011.9.10
- ⑬ 小原次郎, 外丸詩野, 鈴木小百合, 高橋里美, 宮武由甲子, 村田茂穂, 田中啓二, 石津明洋, 笠原正典: 胸腺プロテアソームの異所性発現による T 細胞分化の異常. 第 100 回日本病理学会, パシフィコ横浜 (神奈川県), 2011.4.28-30
- ⑭ 高橋里美, 外丸詩野, 合田 文, 小野綾子, 小原次郎, 宮武由甲子, 村田茂穂, 田中啓二, 石津明洋, 笠原正典: プロテアソームの機能異常による病理作用: 脂質代謝や脂肪肝との関連性について. 第 100 回日本病理学会, パシフィコ横浜 (神奈川県), 2011.4.28-30

[その他]
ホームページ等
<http://www.path1-hokudai.jp/path1/Welcome.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮武 由甲子 (MIYATAKE YUKIKO)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：10421984

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし