

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09462

研究課題名(和文) HTLV-1感染キャリアモデルの作製とATL発症予防のための基盤開発

研究課題名(英文) Development of HTLV-1 carrier model mice aiming for preventing ATL development

研究代表者

浜口 功 (Hamaguchi, Isao)

国立感染症研究所・血液・安全性研究部・部長

研究者番号：90348780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト造血幹細胞をNOJ新生児マウス肝臓内に移植することで、ヒト化する手法を確立した。これらのマウスにHTLV-1を感染させることで、HTLV-1キャリアマウスモデルの確立に成功した。このマウスへHTLV-1感染細胞株を経口投与し感染を試みた結果、感染が成立し、比較的長期間の感染動態の解析に適していることを見出した。

さらにHLA-A*02:01遺伝子をMHCクラスIプロモータの制御下で発現させた重度免疫不全Tgマウス (NOG-HLA-A2 Tg)に、HLA-Aアレルが一致する造血幹細胞を移植することで新規ヒト化マウスを作製した。ヒトへの外挿性の高いキャリアモデルが確立されると期待される。

研究成果の概要(英文)：We developed humanized mice by using NOJ (NOD/SCID/JAK3 KO) mice. Human hematopoietic stem cells were transplanted into neonatal liver of NOJ mice, HTLV-1 infected cells are administrated through the humanized mice oral. The mice were infected by HTLV-1, and we could analyze the infectious mechanism of HTLV-1 for the long periods. Furthermore, we have developed new immunodeficient mice with HLA-A*02:01 gene (NOG-HLA-A2 Tg). Hematopoietic stem cells that contained HLA-A*02:01 were transplanted into the humanized mice. These mice would be appropriate for extrapolation to human HTLV-1 carrier.

研究分野：血液学、ウイルス学

キーワード：HTLV-1 ヒト化マウス キャリア モデルマウス

1. 研究開始当初の背景

我が国には、九州沖縄地方を中心に約80~100万人のHTLV-1感染者が存在している。感染者の一部から悪性の白血病であるATLが発症するが、その治療法・予防法は未だ確立されていない。近年、感染者のウイルス量がATL発症の重要なリスクファクターであることが明らかにされている。即ち、血中プロウイルスロードが4%を超える感染者は、ATL発症への高リスクキャリアと考えられる。キャリアの大部分は無症候であるものの、これら高リスクキャリアにおけるATL発症予防法の開発は重要な課題である。

しかしながら、上記のような感染状態を再現する有用な動物モデルは確立されておらず、予防法の研究開発における大きな障害となっていた。

2. 研究の目的

ATL発症予防法の開発には動物モデルが必須であるが、適切なモデルは未だ存在しない。ヒト化マウスモデルはHTLV-1感染症研究に有用であり、これまでに感染メカニズムや治療法検討に利用されている。本研究課題では、ヒト化マウスの技術を用い、長期間HTLV-1感染状態を維持した後にATLを発症する高リスクキャリアモデルの開発を目的とする。

3. 研究の方法

ヒト臍帯血より精製した造血幹細胞を新生児免疫不全マウス肝臓内に移植することで従来型のヒト化マウスを作製した。ヒト化マウスへHTLV-1感染細胞を投与し感染を成立させた。本マウスモデルを用いて、HTLV-1感染症における感染経路の比較、性ホルモンの関与を検討した。また、次世代型の免疫不全マウスを用いて、新規ヒト化マウスモデルの確立とHTLV-1感染によるウイルスの生体内動態および宿主免疫応答等を検討した。

4. 研究成果

ヒト臍帯血より精製したCD133陽性ヒト造血幹細胞を生後48時間以内のNOJマウス肝臓内に移植することで、効率良くヒト化マウスを作製する手法を確立した。これらのマウスにHTLV-1を感染させることで、マウス

個体内でHTLV-1の新規感染と、感染したクローンが経時的に増殖するHTLV-1キャリアマウスモデルの確立に成功した。

HTLV-1は主に母乳を介して感染するが、輸血や性交渉、経胎盤など複数の感染経路の存在が知られている。そこで本モデルを用いてHTLV-1感染経路を検討した。ヒト化マウスへHTLV-1感染細胞株を経口投与し感染を試みた結果、経口投与で感染が成立すること、腹腔内投与モデルと比較してウイルス量が低値であること、比較的長期間の感染動態の解析に適していることを見出した。今後は経口感染モデルとして、初期感染のルートやウイルスリザーバー等の同定を目指す。

一方、近年のHTLV-1疫学調査によって、感染者のうち50~60代の女性において血中プロウイルスロードが他の世代よりも有意に高くなる事実を明らかにし(Lancet Infect Dis. 2016)、性感染症の側面から、本マウスモデルを用いて性ホルモンとHTLV-1感染細胞との相互作用の解析を行った。その結果、女性ホルモンであるエストロゲンが感染細胞の増殖制御に関与している可能性を示した。

本研究課題において確立したHTLV-1キャリアモデルは、上述のように個体レベルでの感染動態の解明に有用であると考えられるが、一方で一部の感染者で見られる低プロウイルスロードの潜伏感染状態が再現されていない。HTLV-1の生体内での制御には宿主免疫機構が重要な役割を演じていると考えられている。そこで、これまでのヒト化マウス個体内では誘導が困難であったHTLV-1特異的細胞性免疫機構を誘導するために、HLA-A*02:01遺伝子をMHCクラスIプロモータの制御下で発現させた重度免疫不全Tgマウス(NOG-HLA-A2 Tg)に対して、HLA-Aアレルが一致する造血幹細胞を移植することで新規ヒト化マウスを作製した。同手法で作製したヒト化マウスへHTLV-1を腹腔内経路で感染させたところ、一部の感染個体ではHTLV-1特異的免疫応答が惹起された。本モデルを用いて感染細胞の潜伏状態を再現することで、ヒトへの外挿性の高いキャリアモデルが確立されると期待される。

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7件)

Tezuka K, Okuma K, Kuramitsu M, Matsuoka S, Tanaka R, Tanaka Y, Hamaguchi I. Control of HTLV-1 Infection by Eliminating Envelope Protein-Positive Cells with Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Encoding HTLV-1 Primary Receptor. **J. Virol.** 2018;92:e01885-17. (査読有り) DOI: 10.1128/JVI.01885-17.

Kuramitsu M, Sekizuka T, Yamochi T, Firouzi S, Sato T, Umeki K, Sasaki D, Hasegawa H, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Momose H, Araki K, Saito M, Nosaka K, Utsunomiya A, Koh Ki-R, Ogata M, Uchimaruk, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Okayama A, Miura K, Satake M, Saito S, Itabashi K, Yamaguchi K, Kuroda M, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I, Proviral features of human T cell leukemia virus type 1 in carriers with indeterminate western blot results. **J. Clin. Microbiol.** 2017, 55(9):2838-2849, (査読あり) DOI:

Satake M, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I, Incidence of new HTLV-1 infections among adolescents and adults in Japan: a nationwide retrospective cohort analysis of repeat blood donors. **Lancet Infect Dis**, 2016, 16:1246-1254, (査読あり) DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30252-3.

Kuribayashi W, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Momose H, Sasaki E, Furuhashi K, Asada Y, Iwama A, Matsuoka M, Mizukami T, Hamaguchi I. Impact of the SCF signaling pathway on leukemia stem cell-mediated ATL initiation and progression in an HBZ transgenic mouse

model. **Oncotarget**, 2016 2016, 7(32):51027-51043. (査読あり) DOI: 10.18632/oncotarget.

Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nojima K, Hamaguchi I. Development of a novel dengue virus serotype-specific multiplex real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for blood screening. **Transfusion**. 2016; 56: 3094-3100. (査読有り) DOI: http://10.1111/trf.13875.

Kuramitsu M, Okuma K, Yamochi T, Sato T, Sasaki D, Hasegawa H, Umeki K, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Naruse I, Yamagishi M, Nakashima M, Momose H, Araki K, Mizukami T, Mizusawa S, Okada Y, Ochiai M, Utsunomiya A, Koh K-R, Ogata M, Nosaka K, Uchimaruk, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Satake M, Okayama A, Mochizuki M, Izumo S, Saito S, Itabashi K, Kamihira S, Yamaguchi K, Watanabe T, Hamaguchi I. Standardization of quantitative PCR for human T-cell leukemia virus type 1 in Japan: A collaborative study. 2015, **J. Clin. Microbiol.** 53:3485-91, (査読あり) DOI: 10.1128/JCM.00659-17

Hiyoshi M, Okuma K, Tateyama S, Takizawa K, Saito M, Kuramitsu M, Araki K, Morishita K, Okada S, Yamamoto N, Biragyn A, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Furin-dependent CCL17-fused recombinant toxin controls HTLV-1 infection by targeting and eliminating infected CCR4-expressing cells *in vitro* and *in vivo*. **Retrovirology**, 2015, 12:73, (査読あり) DOI: 10.1186/s12977-015-0199-8.

[学会発表](計7件)

Kenta Tezuka, Kazu Okuma, Isao Hamaguchi. Development of a novel high-sensitive nucleic acid testing method for quantifying VSV vector *in vivo*. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017

手塚健太, 大隈和, 倉光球, 田中勇悦, 田中礼子, 浜口功. HTLV-1 受容体をコードする組換え水疱性口内炎ウイルスを用いた HTLV-1 感染の制御. 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 大阪, 2017

Kuramitsu M, Sekizuka T, Matsumoto C, Sobata R, Sagara Y, Kuroda M, Satake M, Itabashi K, Okuma K, Hamaguchi I. Genomic feature of HTLV-1 in Western blot indeterminate. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Tokyo, 2017

Tezuka K, Okuma K, Kuramitsu M, Tanaka Y, Tanaka R, Hamaguchi I. Targeting and Eliminating HTLV-1-infected Cells with Cytolytic Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Encoding HTLV-1 Primary Receptor. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Tokyo, 2017

Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Biragyn A, Hamaguchi I. Establishment of a Novel HTLV-1-specific CCR4-targeting Therapy Using a CCL17-bound Oligonucleotide Delivery System. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Tokyo, 2017

Mizukami T, Nojima K, Kuribayashi W, Sasaki E, Hiradate Y, Kuramitsu M, Furuhashi K, Matsuoka S, Okuma K, Sobata R, Matsumoto C, Satake M, Tadokoro K, Hamaguchi I. Efficacy and Safety Evaluation of HTLV-1 Hyperimmune Globulins Against HTLV-1 Infection in a Humanized Mouse Model. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Tokyo, 2017

Hamaguchi I. Present condition of HTLV-1 infection in Japan and the policy of measures. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Tokyo, 2017

出願状況 (計 1 件)

名称: 検出及び/又は定量用プライマー対、検出及び/又は定量用プローブ、及び、検出及び/又は定量用キット(組換え水疱性口内炎ウイルスを用いたワクチン・治療薬開発に向けたモニタリングのためのウイルスベクター定量法)

発明者: 大隈 和、手塚 健太、浜口 功

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2017-131361

出願年月日: 平成 29 年 7 月 4 日

国内外の別: 国内

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

浜口 功 (HAMAGUCHI, Isao)

国立感染症研究所

血液・安全性研究部

部長

研究者番号: 90348780