

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09507

研究課題名(和文) HTLV-1キャリアにおける遺伝子変異の解析とその臨床的意義の解明

研究課題名(英文) Analysis of genetic abnormalities in HTLV-1 carrier and elucidation of its significance

研究代表者

日高 智徳 (Hidaka, Tomonori)

宮崎大学・医学部・講師

研究者番号：40381115

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ATLLでは50遺伝子に有意に変異が認められる。本研究では、キャリア約30例の末梢血CD4陽性T細胞を用いて、ATLLでみられる遺伝子の標的シーケンスを実施し、変異の有無・種類とその後のATLL発症の有無を検討した。30例のうち1例のみで複数遺伝子の変異を認め、同症例はその後ATLLを発症した。同症例での経時的な遺伝子変異解析からは、キャリア時とATLL発症時では異なる遺伝子変異が認められ、必ずしもキャリア時点でのメジャークローンからATLLが発症するとは限らないことが明らかとなった。ATLL発症の際のクローン選択機序のさらなる解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：Recent research revealed that 50 genes are significantly mutated in ATLL. In this study, we sequentially performed targeted sequencing of the 50 genes on peripheral blood CD4 positive T-cells among 30 HTLV-1 carriers. Only in one carrier, a few mutations were confirmed at the first sequencing. During the follow up, the carrier with mutations developed ATLL, while other carriers did not. Unexpectedly, sequential sequencings of the carrier who developed ATLL revealed that mutations were different between the first and the following sequencing, suggesting that ATLL does not necessarily develops from the major clone at the time of carrier. The elucidation of the mechanism of the clonal selection is expected.

研究分野：血液内科学

キーワード：HTLV-1キャリア 高リスク 遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

現在国内にはヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) キャリアが約 100 万人存在し、毎年約 1000 人が成人 T 細胞性白血病・リンパ腫 (ATLL) を発症すると推定されている。世界に目を転じると、中南米、アフリカ、中東、およびこれらの国出身の住民が多い欧米都市を中心に 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。ATLL に対する化学療法の効果は限定的であり、HTLV-1 キャリアが一旦 ATLL を発症した場合、治癒を得ることは極めて困難である。その為、キャリアからの発症予防、早期の治療介入手法の確立が望まれる。これまでに HTLV-1 プロウイルス量高値のキャリアから ATLL が発症することが報告されているが、高リスクと判断される集団はキャリア全体の 29% におよび、実際に ATLL を発症する比率 (~5%) と大きく異なることから、さらに有効なスクリーニング法の開発が望まれている。

2. 研究の目的

ATLL では計 50 個の遺伝子で有意に変異が認められることが明らかとなっているが、HTLV-1 プロウイルス量以外には ATLL 発症高リスク群を絞り込む有効な指標が同定されていない。そこで、本研究では HTLV-1 キャリアを対象とした遺伝子解析を行い、ATLL と同様の遺伝子変異を持った無症候キャリアを見出すことによって高リスクキャリアを同定することが可能か否かを検討した。

3. 研究の方法

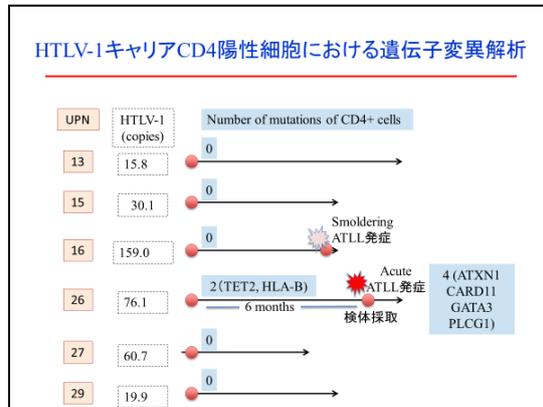
キャリア末梢血より得たサンプルを用いて上記 50 個の遺伝子の標的シーケンスが可能か否かについて、CD4 陽性細胞由来 DNA を用いて検討し、同 DNA を用いた標的シーケンス系を確立した。次に、キャリア約 30 例を対象に、上記の標的シーケンスを実施した。変異を認めた症例については、特に注意深く経過を追跡し、経時的な遺伝子変異解析を実施した。変異の有無・種類と臨床情報 (末梢血 HTLV-1 プロウイルス量、ATLL 発症の有無) を合わせた解析を行い、高リスクキャリアを同定することが可能か否かを検討した。

4. 研究成果

基礎的検討では、キャリア末梢血より単核球を分離、MACS マイクロビーズを用いて CD4 陽性細胞を分離し、同細胞より DNA を抽出した。次に、CD4 陽性細胞由来 DNA を用いて、上記 50 個の遺伝子の標的シーケンスを行い、変異の有無が評価可能であるこ

とを確認し、標的シーケンス系を確立した。基礎的検討の後、キャリア約 30 例を対象に、上記の標的シーケンスを実施した。30 例中 1 例で変異を認め、この症例はその後 ATLL を発症したため、経時的な遺伝子変異解析を実施した。結果、キャリア時と ATLL 発症時では異なる遺伝子変異が認められ、必ずしもキャリア時点でのメジャークローンから ATLL が発症するとは限らないことが明らかとなった。現在解析対象をキャリア約 56 例に拡大し、同様の検討を進めている。

ATLL 発症の際のクローン選択には、HTLV-1 感染細胞に対する免疫応答の破綻が関与していると想像されており、免疫応答の破綻には宿主側のみならず、HTLV-1 側の遺伝子変異も影響している可能性がある。今後、宿主と HTLV-1 の両面の遺伝子変異情報を統合した、クローン選択機序の解明が期待される。



age	HTLV-1が わかった契機	高ウイルス量	ATL家族歴	integration	その後の、 ATL発症/ ATL増悪
73	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
78	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
85	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
71	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
82	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
85	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
87	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
87	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
74	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
88	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
81	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
86	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
79	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
74	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
79	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
75	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
86	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
87	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
79	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
83	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
86	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
71	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
74	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
82	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
85	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
88	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
74	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
84	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
84	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
87	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
84	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
88	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
57	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
41	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
55	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
39	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
52	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
40	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
80	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
47	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
46	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
58	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
55	検疫で検出	1	なし	HTLV	発症
80	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
42	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
53	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
55	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
55	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
35	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
48	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
59	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
37	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
34	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
57	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症
88	検疫で検出	0	なし	HTLV	発症

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 15 件)

- ① Kamiunten A, Sekine M, Kameda T, Akizuki K, Tahira Y, Shide K, Shimoda H, Kato K, Hidaka T, Kubuki Y, Shimoda K, Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with adult T cell leukemia., Hematological ONCOLOGY, 査読有, submitted.
- ② Kubuki Y, Yamaji T, Hidaka T, Kameda T, Shide K, Sekine M, Kamiunten A, Akizuki K, Shimoda H, Tahira Y, Nakamura K, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Yamamoto S, Hasuike S, Nagata K, Kitanaka A, Shimoda K, TET2 mutation in diffuse large B-cell lymphoma., Journal of clinical and experimental hematopathology, 査読有, 56, 2017, 145-149, 10. 3960/jslrt. 56. 145
- ③ Kubuki Y, Shide K, Kameda T, Yamaji T, Sekine M, Kamiunten A, Akizuki K, Shimoda H, Tahira Y, Nakamura K, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Hashimoto K, Yamamoto S, Hasuike S, Hidaka T, Nagata K, Kitanaka A, Shimoda K, Differences in Hematological and Clinical Features Between Essential Thrombocythemia Cases With JAK2- or CALR-Mutations., Annals of laboratory medicine., 査読有, 37, 2017, 159-161, 10. 3343/alm. 2017. 37. 2. 159.
- ④ Sekine M, Kubuki Y, Kameda T, Takeuchi M, Toyama T, Kawano N, Maeda K, Sato S, Ishizaki J, Kawano H, Kamiunten A, Akizuki K, Tahira Y, Shimoda H, Shide K, Hidaka T, Kitanaka A, Yamashita K, Matsuoka H, Shimoda K, Effects of mogamulizumab in adult T-cell leukemia/lymphoma in clinical practice., European journal of haematology., 査読有, 98, 2017, 501-507, 10. 1111/ejh. 12863.
- ⑤ 上運天綾子, 下田和哉, 骨髄疾患による貧血 骨髄線維症 疾患概念・病因・病態、日本臨牀増刊号、査読無、75、2017、311-314、http://www.nippon-rinsho.co.jp/backnum/z_mokuji/7501Z.html
- ⑥ Kitanaka A, Takenaka K, Shide K, Miyamoto T, Kondo T, Ozawa K, Kurokawa M, Akashi K, Shimoda K, Splenic irradiation provides transient palliation for symptomatic splenomegaly associated with primary myelofibrosis: a report on 14 patients., International Journal of Hematology., 査読有, 103, 2016, 423-428, 10. 1007/s12185-016-1940-3
- ⑦ 久富木庸子, 下田和哉, 遺伝子解析に基づくがん治療 骨髄増殖性腫瘍 (MPN/CML)、がん分子標的治療 Vol. 14 No. 1、査読無、14、2016、49-53、<http://www.m-review.co.jp/magazine/id/43>
- ⑧ 北中明, 下田和哉, II. 本態性血小板血症の治療—アナグレリドの位置付け—、癌と化学療法、査読無、43、2016、535-538、<http://www.pieronline.jp/content/issue/0385-0684/43050>
- ⑨ 秋月溪一, 下田和哉, 骨髄増殖性腫瘍に対するテロメラゼ阻害薬 imetelstat の効果、血液フロンティア、査読無、26、2016、84-88、https://www.iyaku-j.com/index.php?main_page=index&cPath=5_1_17_4628
- ⑩ 関根雅明, 下田和哉, MPN の治療は、いつ開始すべきか?、血液内科、査読無、73、2016、57-62、<http://www.kahyo.com/item/KS201607-731>
- ⑪ Shide K, Kameda T, Yamaji T, Sekine M, Inada N, Kamiunten A, Akizuki K, Nakamura K, Hidaka T, Kubuki Y, Shimoda H, Kitanaka A, Honda A, Sawaguchi A, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Hasuike S, Yamamoto S, Nagata K, Shimoda K, Calreticulin mutant mice develop essential thrombocythemia that is ameliorated by the JAK inhibitor ruxolitinib., Leukemia., 査読有, 308, 2016, 1-21, 10. 1038/leu. 2016. 308
- ⑫ 日高智徳, 下田和哉, 骨髄増殖性腫瘍 骨髄線維症の治療、日本臨牀増刊号、査読無、74、2016、191-195、http://www.nippon-rinsho.co.jp/backnum/z_mokuji/7412Z.html
- ⑬ 幣光太郎, 下田和哉, JAK2, MPL, CALR 変異による骨髄増殖性腫瘍、日本臨牀増刊号、査読無、74、2016、329-333、http://www.nippon-rinsho.co.jp/backnum/z_mokuji/7410Z.html
- ⑭ 久富木庸子, 下田和哉, 骨髄増殖性腫瘍の WHO 分類、日本臨牀増刊号、査読無、74、2016、381-385、http://www.nippon-rinsho.co.jp/backnum/z_mokuji/7410Z.html
- ⑮ 亀田拓郎, 下田和哉, 白血病における遺伝子ゲノム研究の動向 骨髄増殖性腫瘍、日本臨牀増刊号、査読無、74、2016、468-472、http://www.nippon-rinsho.co.jp/backnum/z_mokuji/7412Z.html

[学会発表] (計 9 件)

- ① Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Takuro Kameda, Kotaro Shide, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Kazuya Shimoda, Testicular relapse of primary central nervous system lymphoma, 第79回日本血液学会学術集会, 2017/10/21, 東京都
- ② Kotaro Shide, Takuro Kameda, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Arata Honda, Masahito Ikawa, Kazuya Shimoda, Murine CALR mutants Homologous to human CALR mutants activate STATs, but do not develop MPNs in vivo, 第79回日本血液学会学術集会, 2017/10/21, 東京都
- ③ Ayako Kamiunten, Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Masaaki Sekine, Takuro Kameda, Kotaro Shide, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Kazuya Shimoda, Retrospective analysis of allo-HSCT for ATLL in single center experience. 第79回日本血液学会学術集会, 2017/10/21, 東京都
- ④ Takuro Kameda, Kotaro Shide, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Yuki Tahira, Keiichi Akizuki, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Kazuya Shimoda, Effect of HBZ and PRKCbD427N in ATLL development. 第79回日本血液学会学術集会, 2017/10/21, 東京都
- ⑤ Masaaki Sekine, Yoko Kubuki, Takuro Kameda, Masanori Takeuchi, Takanori Toyama, Noriaki Kawanom, Kouichi Maeda, Siichi Sato, Junzo Ishizaki, Hiroshi Kawano, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Haruko Shimoda, Kotaro Shide, Tomonori Hidaka, Akira Kitanaka, Kiyoshi Yamashita, Hitoshi Matsuoka, Kazuya Shimoda, Effects of mogamulizumab in adult T-cell leukemia/lymphoma in clinical practice. 第79回日本血液学会学術集会, 2017/10/22, 東京都
- ⑥ Masaaki Sekine, Yoko Kubuki, Takuro Kameda, Masaki Takeuchi, Takanori Toyama, Noriaki Kawano, Kouichi Maeda, Siichi Sato, Junzo Ishizaki, Hiroshi Kawano, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Haruko Shimoda, Kotaro Shide, Tomonori Hidaka, Akira Kitanaka, Kiyoshi Yamashita, Hitoshi Matsuoka, Kazuya Shimoda, Mogamulizumab for adult T-cell leukemia/lymphoma in clinical practice., 58th ASH Annual Meeting & Exposition, 2016/12/3-6, アメリカ合衆国
- ⑦ Kotaro Shide, Takuro Kameda, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Arata Honda, Akira Sawaguchi, Akira Kitanaka, Kazuya Shimoda, Physiological Expression of Calr Mutant Increases Cell Growth and Cytokine Independency in Human Cell Lines Expressing Mpl, and Develops Essential Thrombocythemia in Mice., 58th ASH Annual Meeting & Exposition, 2016/12/3-6, アメリカ合衆国
- ⑧ Kotaro Shide, Takuro Kameda, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Arata Honda, Akira Kitanaka, Kazuya Shimoda, CALRdel52 mutation activates the JAK-STAT pathway in coordination with MPL, and causes ET in mice., 第78回日本血液学会学術集会, 2016年10月15日, 横浜市
- ⑨ 亀田拓郎、幣光太郎、関根雅明、山路卓巳、田平優貴、秋月溪一、上運天綾子、下田晴子、日高智徳、久富木庸子、北中明、下田和哉、T E T 2 欠損は HBZ トランスジェニックマウスの病態を増悪させる、第3回日本 HTLV-1 学会学術集会、2016年8月27日、鹿児島市
- [図書] (計 8 件)
- ① 上運天綾子、下田和哉、株式会社 日本臨牀社、貧血学—最新の診断・治療動向—、2017、644
- ② 日高智徳、下田和哉、南江堂、血液疾患最新の治療 2017-2019、2017、370
- ③ 亀田拓郎、下田和哉、株式会社最新医学社、診断と治療の ABC113 慢性骨髄背白血病 骨髄増殖性腫瘍、2016、223
- ④ 幣光太郎、下田和哉、株式会社医薬ジャーナル、骨髄線維症 (MF) ～分子病態の解明から新規薬物治療薬の開発まで～、第2章 骨髄線維症の基礎 3. 骨髄線維症のマウスモデル、2016、187
- ⑤ 下田和哉、株式会社医薬ジャーナル、Ph 陰性骨髄増殖性腫瘍～分子病態と治療の最前線～、I. Ph 陰性骨髄増殖性腫瘍の疫学と診断基準、2016、123
- ⑥ 久富木庸子、下田和哉、株式会社中外医学社、III. 白血病 E. 骨髄増殖性腫瘍 (MPN) 骨髄線維症の治療 EBM 血液疾患の治療 2017-2018、2016、541
- ⑦ 日高智徳、下田和哉、日本臨牀社、白血病学 (下) —最新の基礎、臨床研究—、2016、582

- ⑧ 亀田拓郎、下田和哉、日本臨牀社、白血病学（下）－最新の基礎，臨床研究－、2016、582

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日高 智徳 (HIDAKA, Tomonori)

宮崎大学・医学部・講師

研究者番号：40381115

(2) 研究分担者

下田 和哉 (SHIMODA, Kazuya)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：90311844