

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 18 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590521

研究課題名（和文） 成人 T 細胞白血病（ATL）の免疫療法に関する研究

研究課題名（英文） Research for Immunotherapy of Adult T cell Leukemia (ATL).

## 研究代表者

長谷川 秀樹 (HASEGAWA HIDEKI)

国立感染症研究所・感染病理部・部長

研究者番号：30 301790

研究成果の概要（和文）：成人 T 細胞白血病（ATL）は治療抵抗性で難治の疾患である。その原因に腫瘍集団の中に抗がん剤に抵抗性のある癌幹細胞が存在する事が示唆されてきた。そこで ATL のマウスモデルを用い癌幹細胞を同定しその細胞を標的とした免疫治療のターゲットと成り得る分子の同定を試みた。質量解析装置（multi TOF MASS）による解析によりマウス ATL 細胞の癌幹細胞の表面に特異的に発現している接着に関与している分子を同定した。同分子は ATL の治療標的になり得る分子である。

研究成果の概要（英文）：Adult T-cell Leukemia (ATL) is a refractory disease. It is suggested that the treatment resistant cancer stem cells are present in the leukemic cells population. We have attempted to identify molecules that can be a target for immunotherapy which target the cancer stem cells using a mouse model of ATL. We identified molecules that are specifically expressed on the surface of cancer stem cells of mouse ATL cells by multi TOF MASS analyzer. The molecule can be a therapeutic target of ATL.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	0	1,500,000
2010 年度	1,000,000	0	1,000,000
2011 年度	1,000,000	0	1,000,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：ウイルス、感染症、免疫学

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-I) の感染によって惹起される悪性度の高い腫瘍性疾患である、成人 T 細胞白血病リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) の病態解明や治療法の開発を目的としてヒトでの病態を反映したモデルマウスの開発を行ってきた。作製されたモデルは表現型が

ヒト ATLL と非常に類似しており、予後が極めて悪く現在有効な治療法が無い ATLL の発症メカニズムの解明と治療法の開発に有用であることが示唆された。

## 2. 研究の目的

成人 T 細胞白血病リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) の病態解明

や治療法の開発を目的としてヒトでの病態を反映したモデルマウスの開発を行ってきた。本研究では本 ATLL モデルマウスを用いて ATLL 発症に係る生体の免疫機構との関連を調べ新しい発症予防法、及び治療法を開発する事を目的とする。

### 3. 研究の方法

成人 T 細胞白血病モデルマウスでの発症予防ワクチンの検討。

HTLV-1 tax 遺伝子導入マウスは成人 T 細胞白血病の発症前のキャリアを再現したモデルでもある。そこで本マウスを用い、本マウス由来白血病細胞の成分より作成したワクチンに自然免疫活性化物質である二本鎖 RNA や defensin 等のアジュバントと加え免疫する事により発症を予防の基礎的検討を行い発症予防に最適な抗原とアジュバントの組み合わせを検討する。

成人 T 細胞白血病モデルマウスでの特異的抗原の同定。

ATL 短期発症モデルである腫瘍細胞の移植マウスでの発症予防における特異的免疫反応を調べワクチン抗原に応用できる抗原の同定を試みる。

いままでの同モデルを用いた研究によりモデル動物での ATL の治療にはいわゆる腫瘍幹細胞を標的とする必要が示唆されてきた。そこで治療標的をマウス ATL の腫瘍幹細胞にしぼり、腫瘍幹細胞で発現している抗原の同定を行う。ATL を発症したモデルマウスより腫瘍細胞を採取し、そのなかからサイドポピュレーションをセルソーターにより分離し幹細胞を集める。幹細胞より膜分画を集め質量解析装置 (multi TOF MASS) により特異的に発現している分子を同定し、治療標的の可否について検討する。

### 4. 研究成果

成人 T 細胞性白血病 (ATL) の新規治療法を開発する目的で我々が開発した ATL の病態を反映したモデルマウスを用いて研究を行った。本モデルマウスで発症する T 細胞性白血病はヒトでの ATL と同様に多くの臓器への浸潤性を示す。我々は今まで本マウスで発症した T 細胞性白血病細胞がケモカインである SDF-1 $\alpha$  に対して走化を示す事を示してきた。そこで SDF-1 $\alpha$  のレセプターである CXCR4 のアンタゴニスト (AMD3100) を用いてマウス白血病細胞への影響を調べたところ SDF-1 $\alpha$  による ERK1/2 のリン酸化及び細胞の走化が抑制される事が明らかとなった。これらの事から AMD3100 が ATL の新規治療薬として利用できる可能性が出てきた。そこで AMD3100 の in

vivo における腫瘍抑制効果を SCID マウスにマウス白血病細胞を腹腔内接種し調べた。結果、 $5 \times 10^3$  個の腫瘍細胞を接種した群で AMD3100 投与により肝臓、肺での腫瘍細胞の浸潤が有意に抑制された。本研究により AMD3100 は in vitro においてヒト ATL 細胞及びマウス白血病細胞の走化性を抑制するだけでなく in vivo においても腫瘍細胞の組織浸潤を抑制する事が明らかとなった。AMD3100 は白血病発症の早期の段階での SDF-1 $\alpha$  による腫瘍細胞の誘引を抑制する事が示唆され新規治療法に応用できる可能性が認められたが治療には腫瘍細胞の浸潤抑制と同時に増殖を抑制する必要がある、今後は増殖抑制能を持つ薬剤との併用時の効果の検討が必要である。

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-I) の感染によって惹起される悪性度の高い腫瘍性疾患である、成人 T 細胞白血病リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) の病態解明や治療法を開発を目的としてヒトでの病態を反映したモデルマウスの開発を行ってきた。本研究では免疫機能を持つ ATLL モデルマウスを用いて ATLL 発症に係る生体の免疫機構との関連を調べ新しい発症予防法、及び治療法を開発する事を目的としている。本年度の計画に即して HTLV-1 tax 遺伝子導入マウスに白血病細胞を移植する事により短期間で腫瘍および白血病を発症するモデルを構築し、腫瘍融解液を抗原に用いたワクチンによる白血病発症予防効果について調べた。ワクチンとして UV 照射した腫瘍融解液、アジュバントとして二本鎖 RNA である poly(I:C)、 $\beta$ -glucan を多く含む zymosan を加える群と加えない群、及びアジュバントのみを用いた群それぞれ腫瘍接種後に 1 週間間隔で 4 回皮下接種した。結果は腫瘍融解液のみを接種した群で白血病発症を 80% の個体で抑制された。アジュバントを投与した群では白血病の発症が認められた。今回の結果は腫瘍融解液に腫瘍ワクチン抗原として有効な分子が含まれている事をしめしているが更に特異的な抗原の同定とアジュバント等に関し更に検討が必要である。

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-I) の感染によって惹起される悪性度の高い腫瘍性疾患である、成人 T 細胞白血病リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) の病態解明や治療法を開発を目的としてヒトでの病態を反映したモデルマウスの開発を行ってきた。本研究では免疫機能を持つ ATLL モデルマウスを用いて ATLL 発症に係る生体の免疫機構との関連を調べ新しい発症

予防法、及び治療法を開発する事を目的としている。本年度はATLの発症予防及び治療法になりうる免疫療法のターゲットとなる抗原の同定を行った。マウスATLを発症したモデル動物の白血球細胞の中からCD38<sup>-</sup>, CD71<sup>-</sup>, CD117<sup>+</sup>の白血球幹細胞の分画とCD38<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>-</sup>の非幹細胞の分画に分け質量分析器を用いて白血球幹細胞に特異的に発現している蛋白を同定した。その結果白血球幹細胞(CSC)/非幹細胞(Non-CSC)比が2以上の分子が14種類得られた。そのうち比が10以上の分子が2つ得られた。これらの中には細胞膜に発現している分子もあり、ATLの免疫療法の分子ターゲットとなる事が期待できる。

#### 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)

1. Yamazaki J, Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Masumi A, Ami Y, Hasegawa H, Hall W. W, Tsujimoto H, Hamaguchi I, Yamaguchi K. Identification of Cancer Stem Cells in a Tax-transgenic (Tax-Tg) Mouse Model of Adult T-Cell Leukemia / lymphoma (ATL). *Blood* 114(13):2709-2720, 2009
2. Kawaguchi A, Orba Y, Kimura T, Iha H, Ogata M, Tsuji T, Ainai A, Sata T, Okamoto T, Hall WW, Sawa H, Hasegawa H. Inhibition of the SDF-1 $\alpha$ -CXCR4 axis by the CXCR4 antagonist AMD3100 suppresses the migration of cultured cells from ATL patients and murine lymphoblastoid cells from HTLV-I Tax transgenic mice. *Blood* 114(14):2961-2968, 2009
3. El Hajj H, El-Sabban M, Hasegawa H, Zaatari G, Ablain J, Saab ST, Janin A, Mahfouz R, Nasr R, Kfoury Y, Nicot C, Hermine O, Hall W, de Thé H, Bazarbachi A. Therapy-induced selective loss of leukemia-initiating activity in murine adult T cell leukemia. *J Exp Med* 207:2785-92, 2010
4. Kawaguchi A, Suzuki T, Kimura T, Sakai N, Ayabe T, Sawa H, Hasegawa H. Functional analysis of an alpha-helical antimicrobial peptide derived from a novel mouse defensin-like gene. *Biochem Biophys Res Commun* 398:778-84, 2010

5. Watters KM, Dean J, Hasegawa H, Sawa H, Hall W, Sheehy N Cytokine and growth factor expression by HTLV-1 Lck-tax transgenic cells in SCID mice. *AIDS Res Hum Retrovir* 26:593-603, 2010
6. Suzuki T, Ainai A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. *Biochem Biophys Res Commun* 414(4):719-726, 2011
7. Yanagita H, Yamamoto N, Fuji H, Liu X, Ogata M, Yokota M, Takaku H, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Hoshino T. Mechanism of Drug Resistance of Hemagglutinin of Influenza Virus and Potent Scaffolds Inhibiting Its Function. *ACS Chem Biol* 7(3):552-562, 2012

[学会発表] (計3件)

1. 池辺詠美、川口晶、田口慎也、川嶋太郎、田中勇悦、堀光雄、澤洋文、西園晃、長谷川秀樹、伊波英克 分子シャペロン阻害剤によるTaxとTax結合蛋白質の機能相関性に対する抑制的影響 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月横島
2. 長谷川秀樹、成人T細胞性白血病(ATL)モデルマウスを用いた新規治療法の試み 第100回日本病理学会総会 2011年4月横浜
3. Hidekatsu Iha, Emi Ikebe, Akira Kawaguchi, Shinya Taguchi, Akira Nishizono, Yuetsu Tanaka, Hirofumi Sawa, Masao Ogata, Mitsuo Hori, Jun-Ichi Fujisawa, Hideki Hasegawa MOLECULAR CHAPERON INHIBITOR-BASED TREATMENT AGAINST ATL:ITS IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION XV International Congress of Virology, Sep 2011 Sapporo

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

長谷川 秀樹 (HASEGAWA HIDEKI)  
国立感染症研究所感染病理部・部長  
研究者番号：30301790

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：