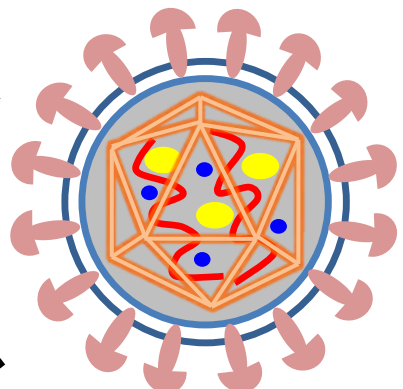


# ヒトT細胞白血病ウイルス1型の 生体内維持機構と発がんにおける役割

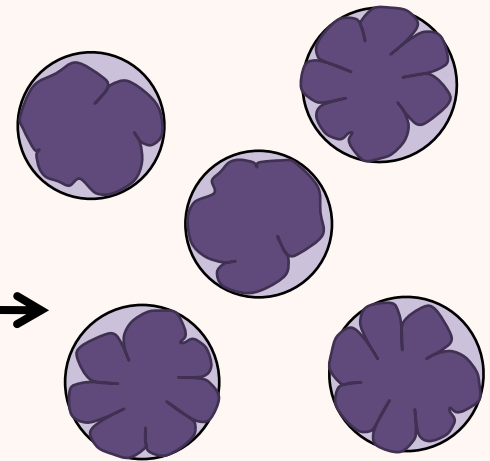
安永純一郎

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

ヒトT細胞白血病ウイルス1型  
HTLV-1



悪性疾患

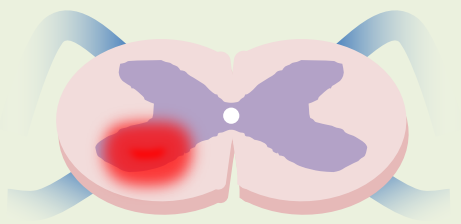


成人T細胞白血病 (ATL)

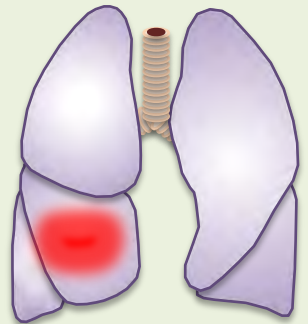
無症候

> 90% of carriers

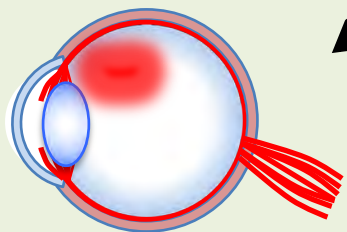
脊髄症



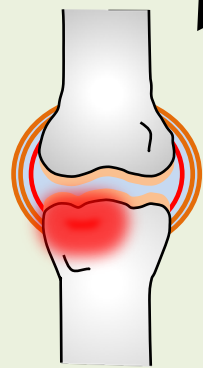
気管支炎



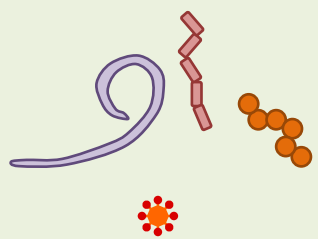
ぶどう膜炎



関節炎

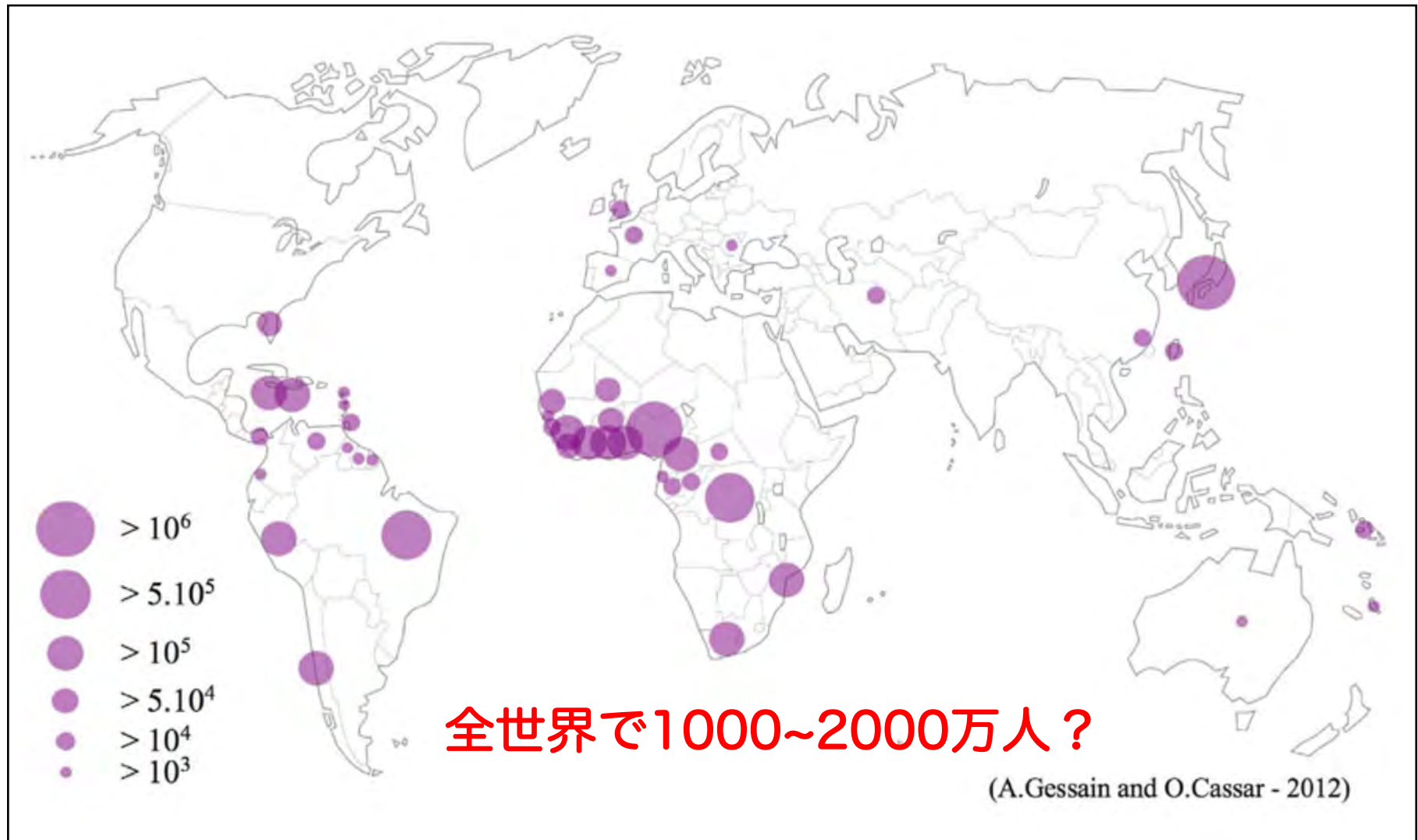


日和見感染症



炎症性疾患

# ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (HTLV-1) 感染者の分布



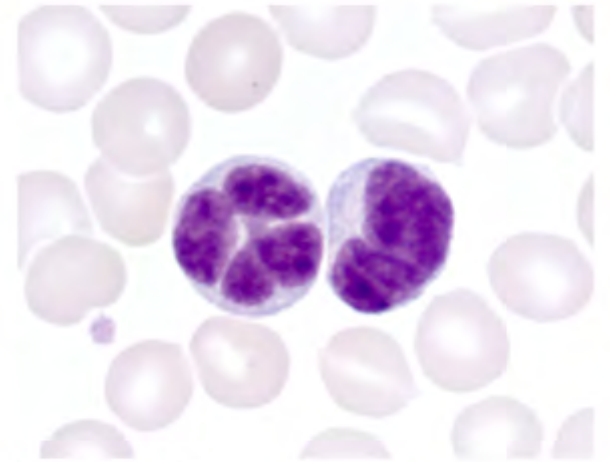
# Doctors raise alarm about ancient HTLV-1 virus: 'Prevalence is off the charts' in Australia



By **Jacqueline Howard**, CNN

🕒 Updated 08:19 GMT (16:19 HKT) May 8, 2018

news feature



Adult T cell leukemia cells. Credit: Masao Matsuda

## Back in the spotlight

A long-neglected virus returns to the top of researchers' to-do lists.

Indigenous investigations  
Health

## What is HTLV-1? The devastating health crisis afflicting central Australia

Between 5% and 10% of those with the virus will develop a rapidly fatal form of leukaemia

Supported by



About the content

**Laurena Allan**

Tue 20 Jun 2018 05:52 BST



62



▲ Jan J. O'Brien, senior research officer with the Royal North Australia Indigenous Health Research Institute, processes samples for HTLV-1 testing. Photograph: Anna Laxton for the Guardian

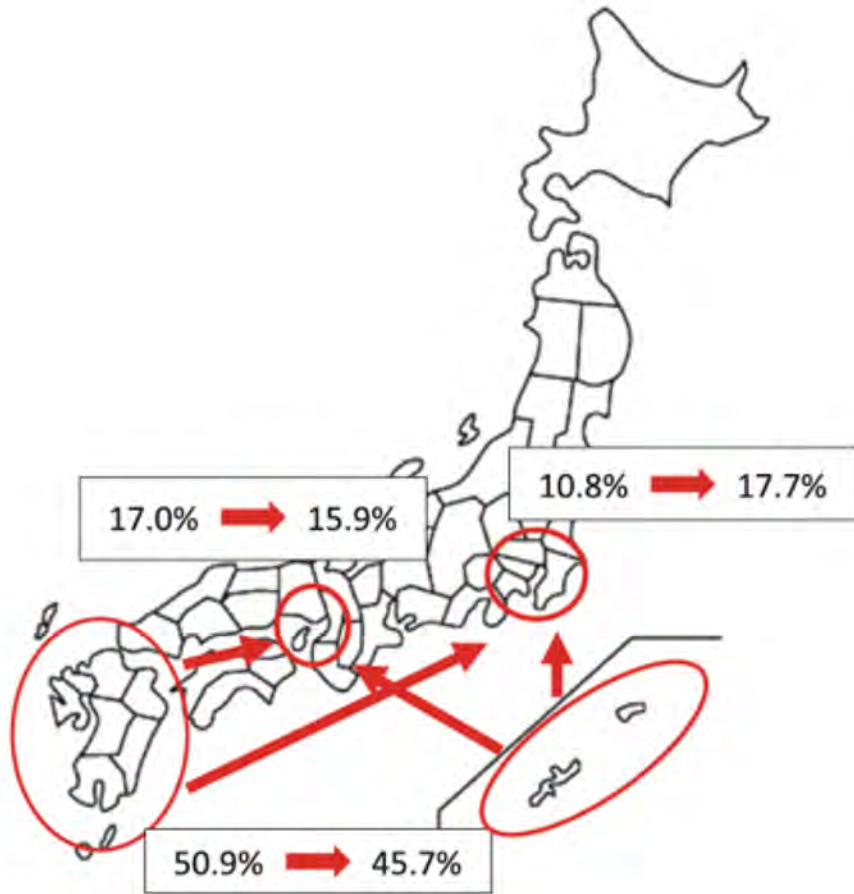
### Prevalence of HTLV-1 in central Australian communities

Showing the percentage of adults that tested positive for HTLV-1 in six communities in:



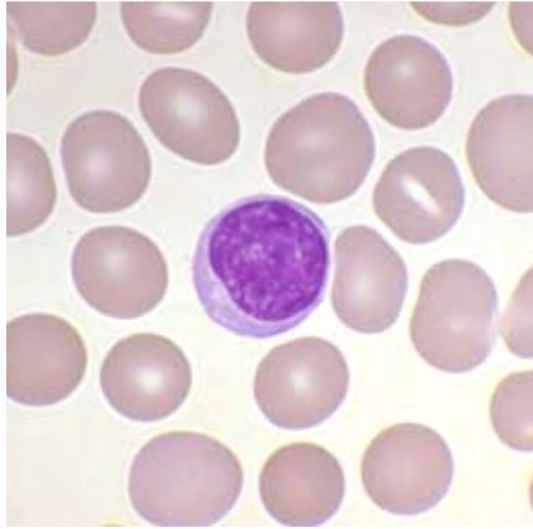
Nat Med. 2018

# 日本は世界最大のHTLV-1蔓延国である

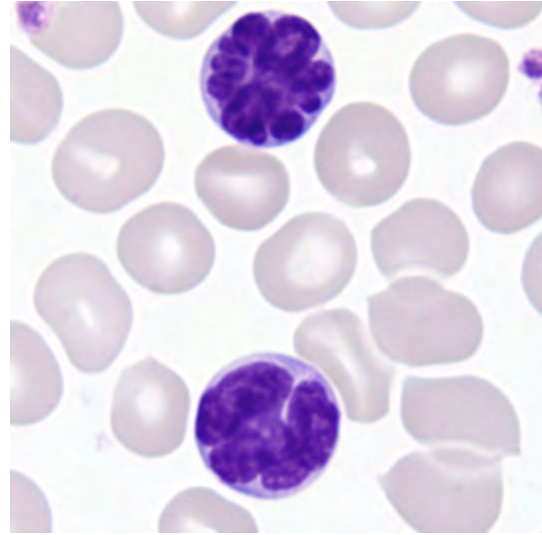


- ◆約80万人の感染者が国内に存在する（約30年前は120万人と推定）。
- ◆都市部で感染者が増えている。
- ◆水平感染（男女間の感染）がおそらく年間4000例程起こっている。
- ◆感染者の5%が生涯の内にATLを発症する。
- ◆年間1000例以上のATL患者が報告されている。
- ◆一旦発症すると、ほとんどの症例が治療抵抗性であり、強力な化学療法をもってしても、1年前後で死亡する。

# ATL細胞



正常リンパ球

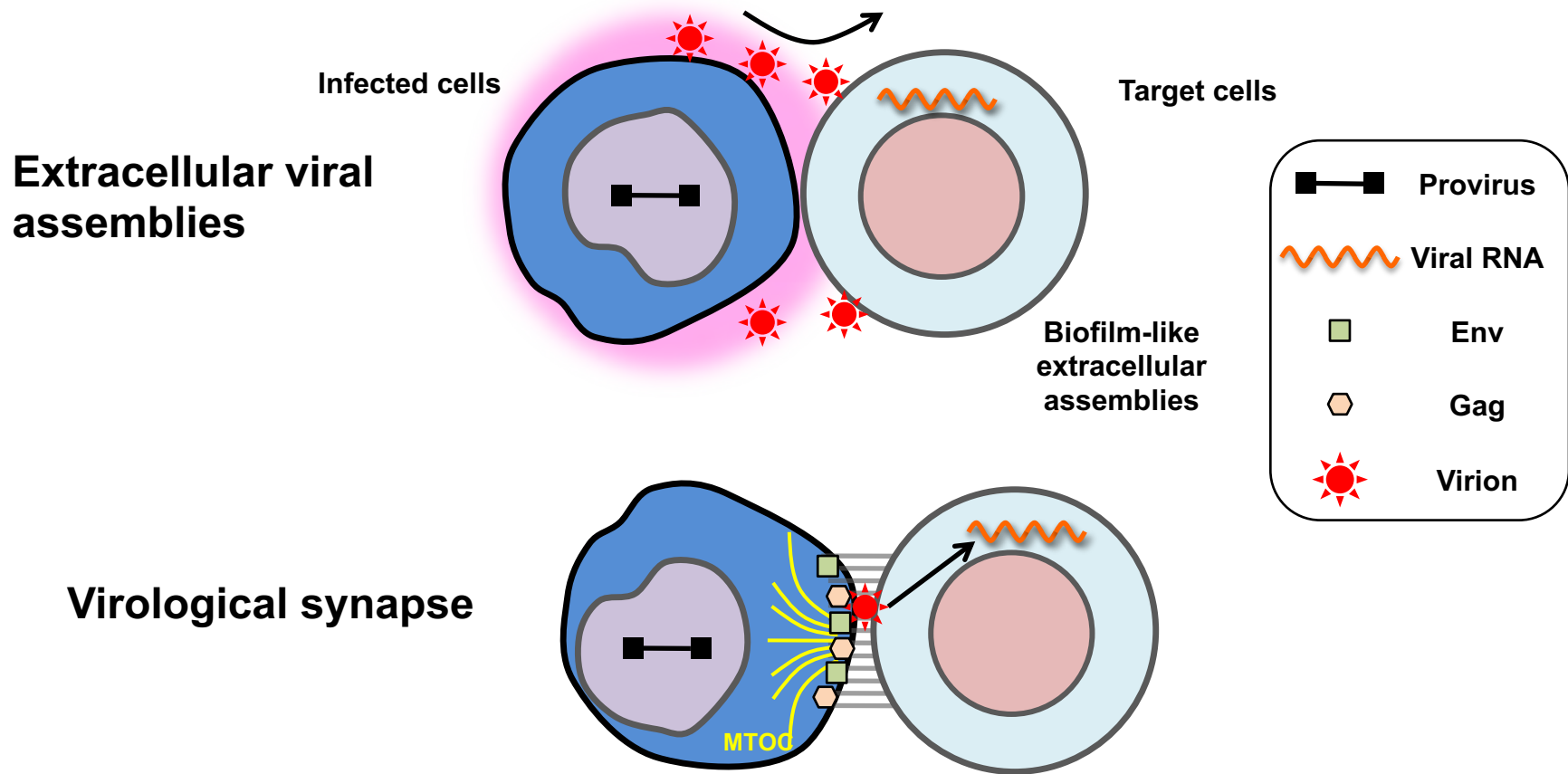


ATL

- HTLV-1感染細胞のモノクローナル増殖
- CD4+CD25+CCR4+CADM1+T細胞
- Foxp3を高頻度に発現し、Tregに類似した免疫形質を呈する



# HTLV-1はcell-to-cellでのみ感染する (母乳、精液、血液中の感染細胞)

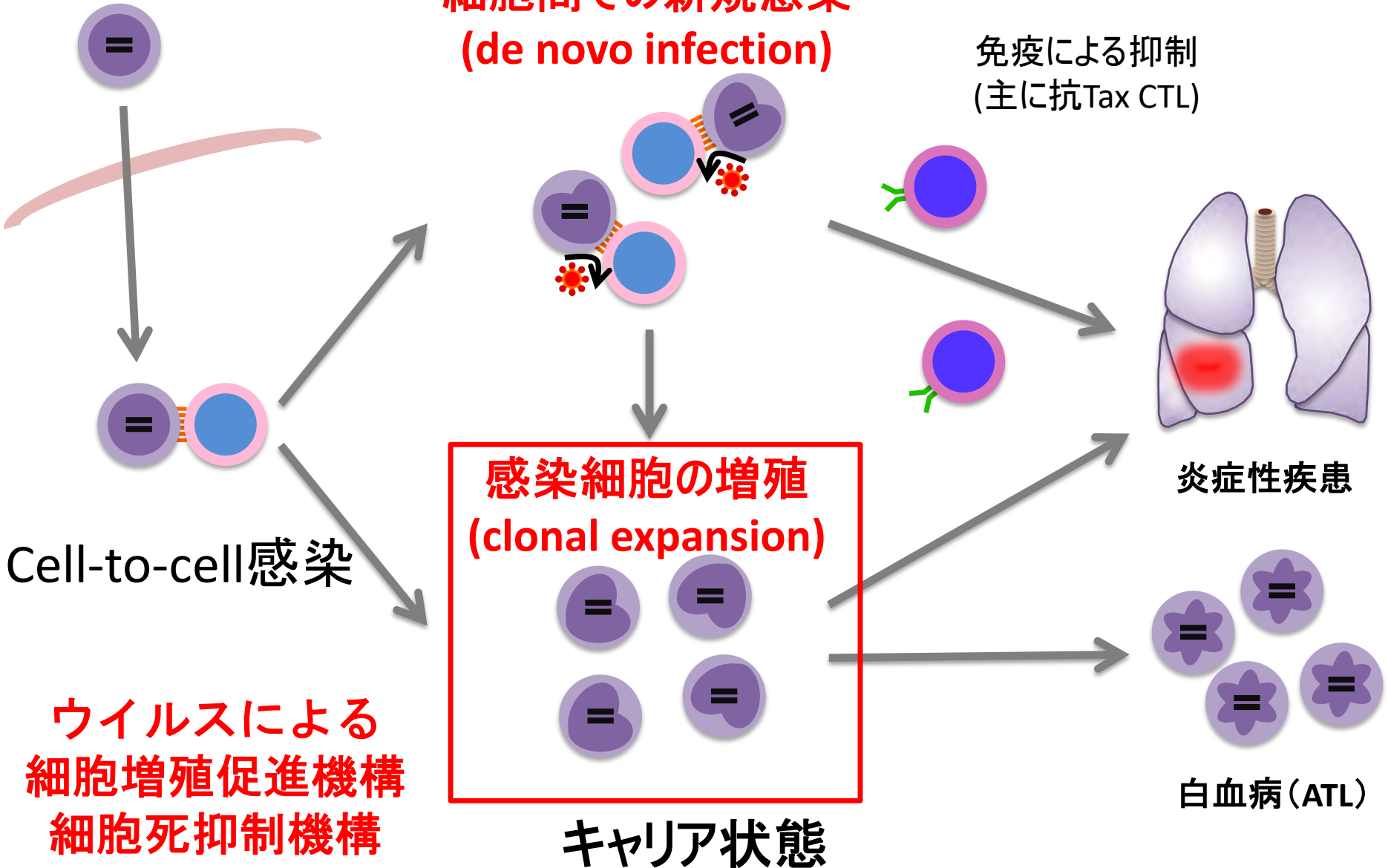


このためHTLV-1は生体内で感染細胞を増加させている

# HTLV-1の生体内動態

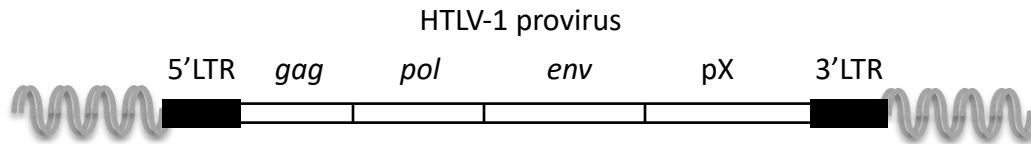
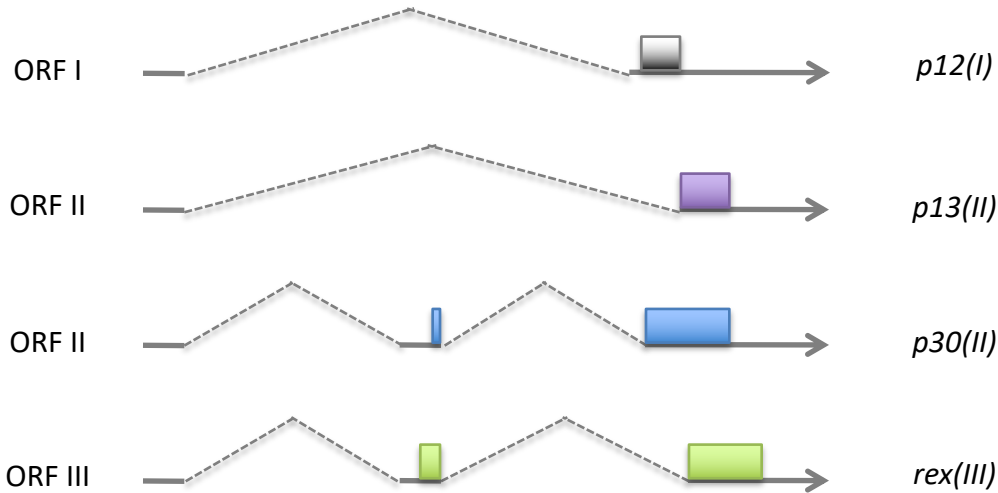
細胞間での新規感染  
(de novo infection)

免疫による抑制  
(主に抗Tax CTL)





# HTLV-1のがん遺伝子 *tax* と *HBZ*



**Oncogenic**

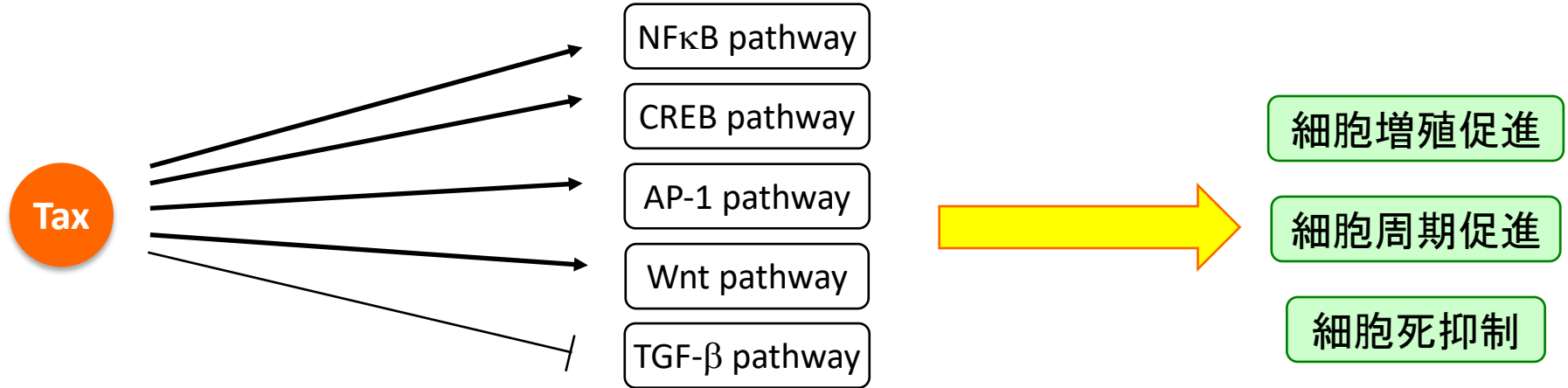


\*HBZ: HTLV-1 bZIP factor

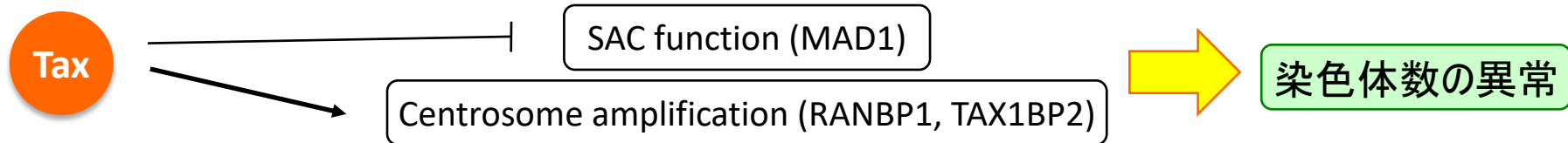


# Tax の多彩な機能

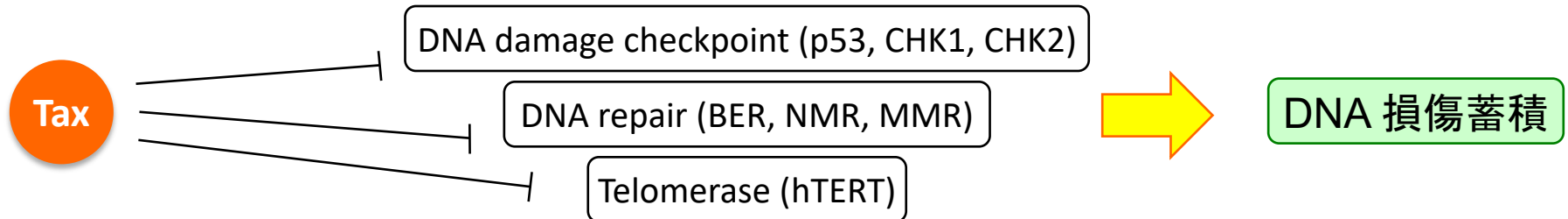
## 1. 様々なシグナル経路の脱制御



## 2. 染色体異常の誘導



## 3. DNA 損傷の蓄積



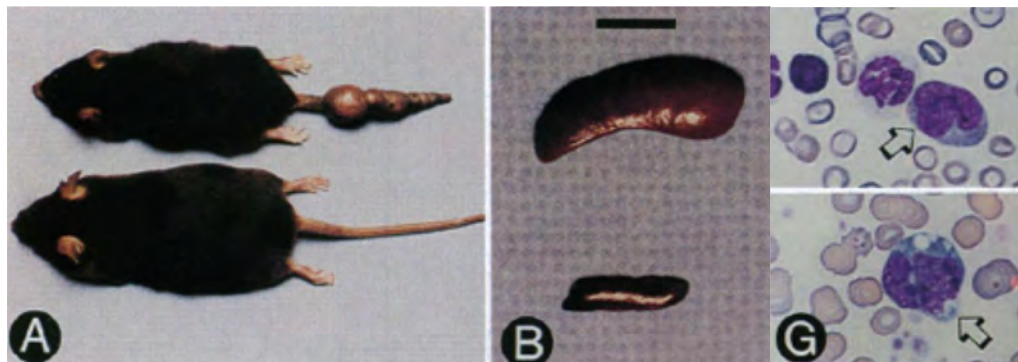
# Taxトランスジェニックマウス は腫瘍及び炎症を発症する



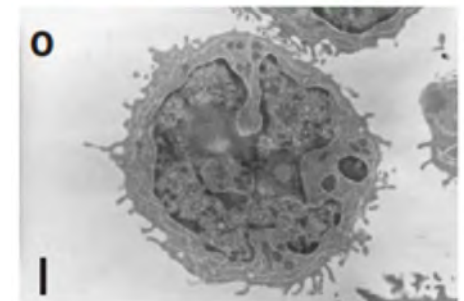
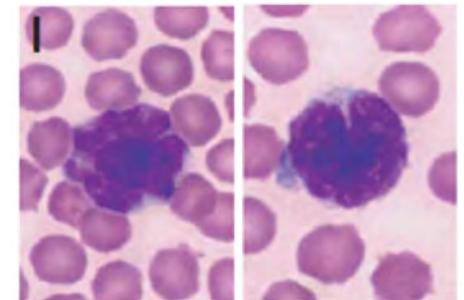
Nerenberg M et al. *Science*, 1987.



Iwakura Y et al. *Science*, 1991.

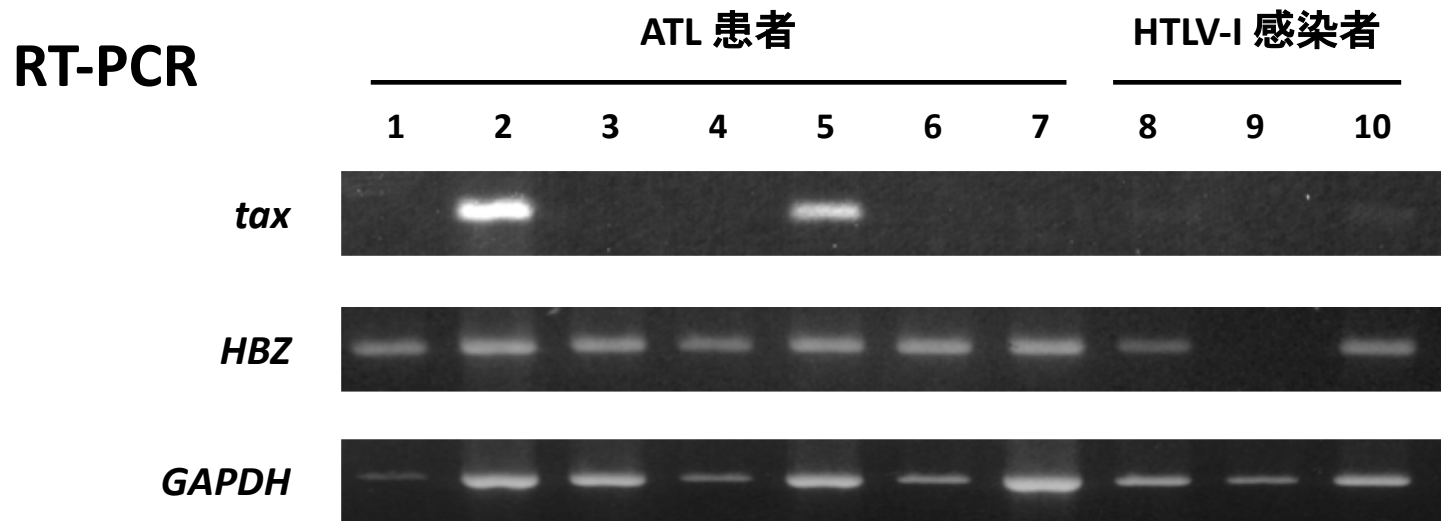


Grossman WJ et al. *PNAS*, 1995.



Hasegawa H et al. *Nat Med*, 2006.

# 多くのATL 症例ではTaxの発現 が著しく低い



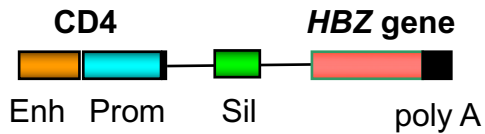
↑  
Proviral load was very low (less than 0.1 %)

Satou Y et al, PNAS, 2006

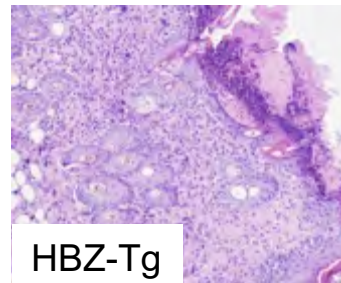
Taxは宿主免疫の主要な標的であることが知られている

# HBZトランスジェニックマウスも腫瘍及び炎症を発症する

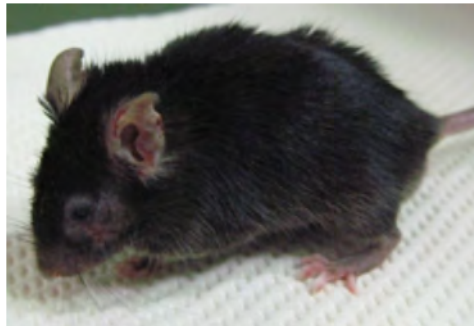
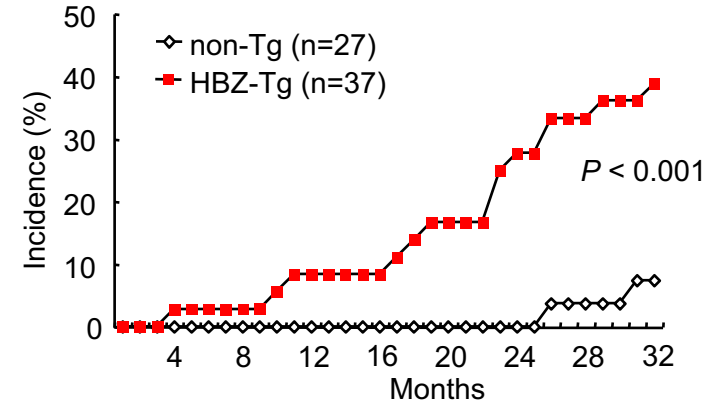
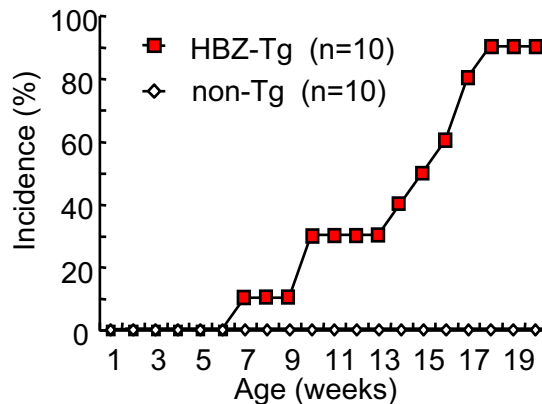
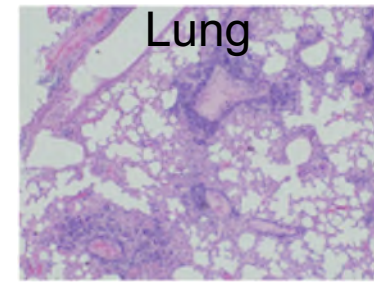
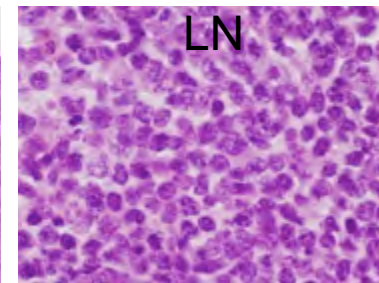
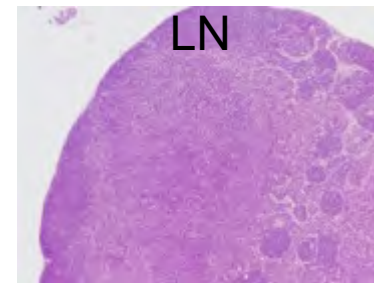
## HBZ-Tg mouse



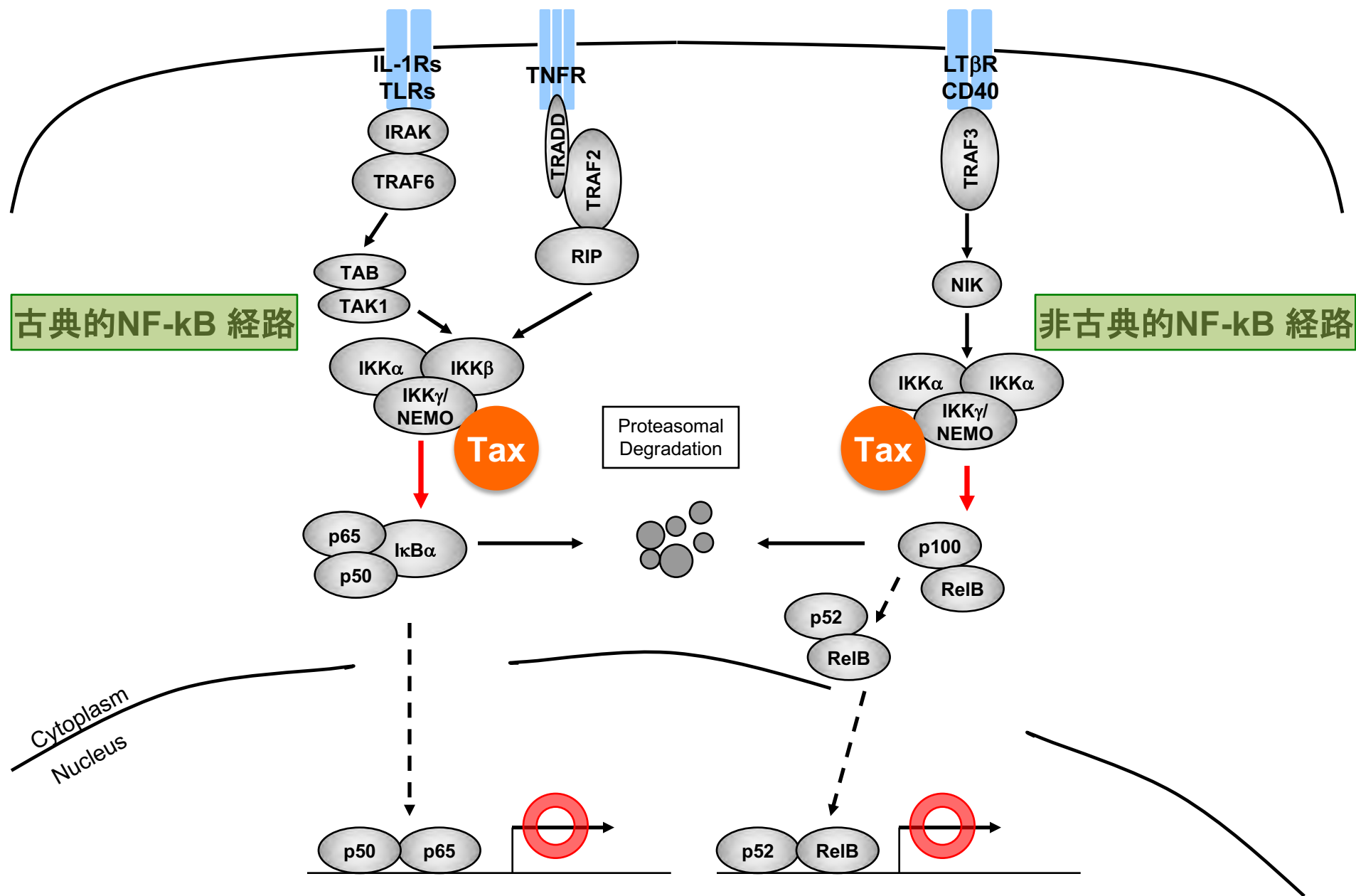
## Chronic inflammation



## T-cell lymphoma



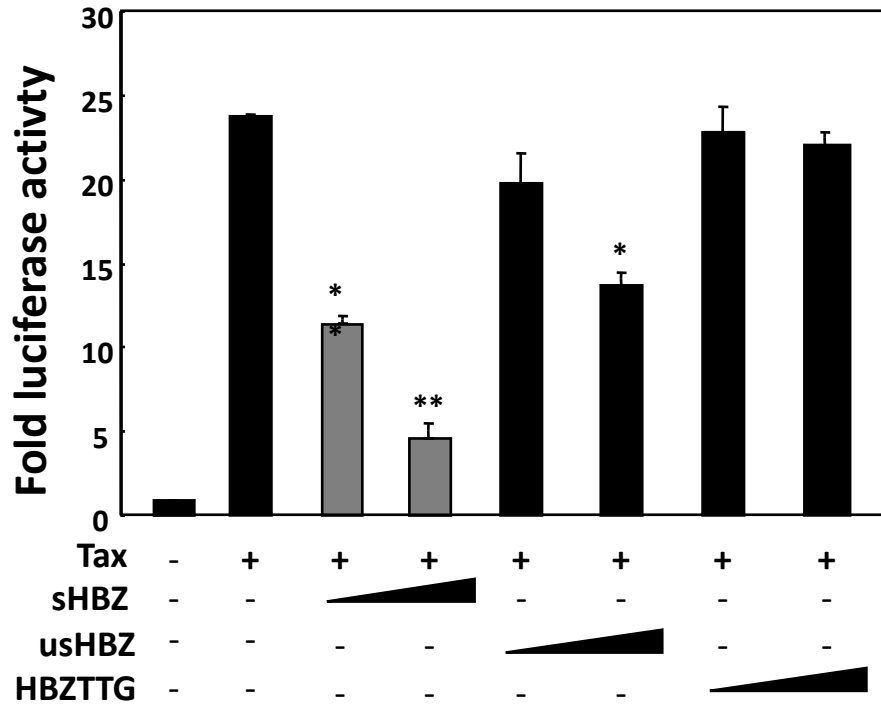
# Taxは古典的・非古典的NF- $\kappa$ B経路を活性化する



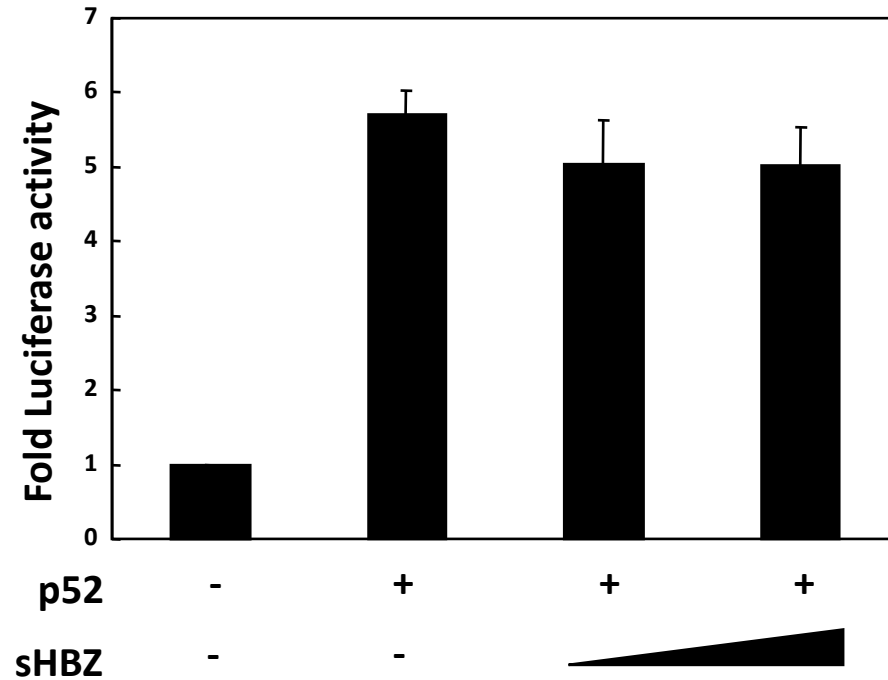


# HBZはTaxによる古典的NF- $\kappa$ B活性化を抑制する

古典的NF- $\kappa$ B 経路



非古典的NF- $\kappa$ B 経路

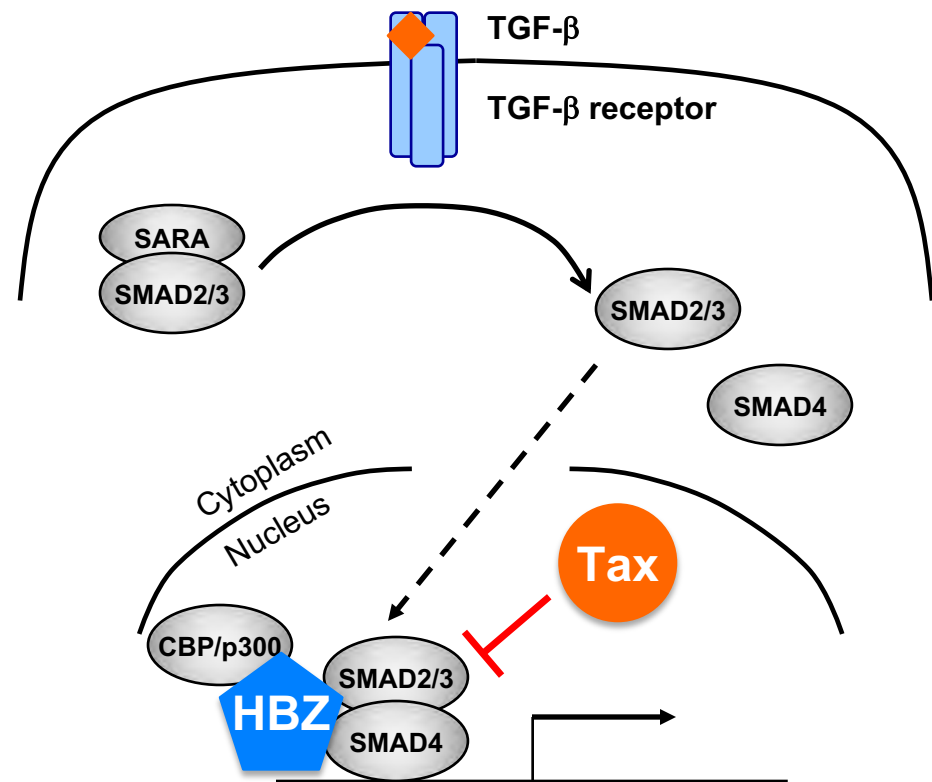
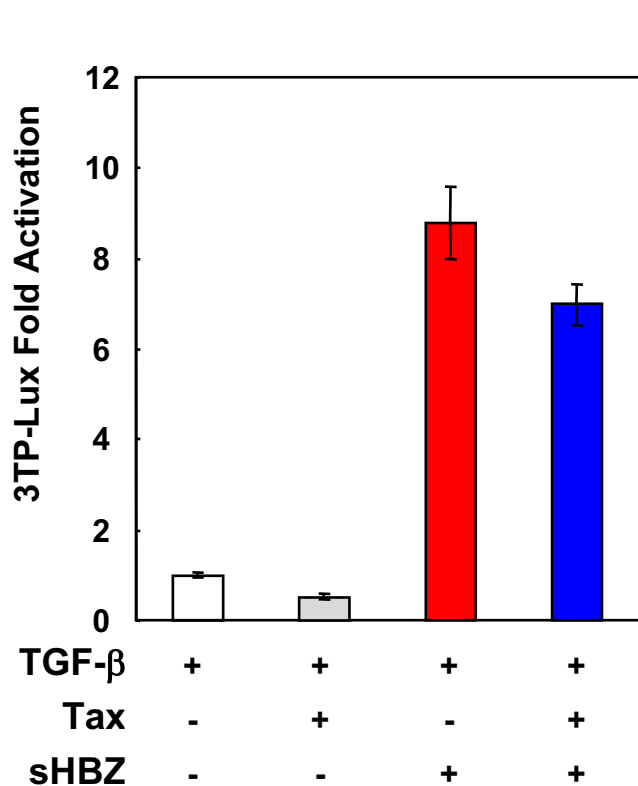


HBZ とRelAの結合による

❖ RelAのDNA結合能低下

❖ RelAのプロテアソームにおける分解促進

# HBZとTaxはTGF- $\beta$ / SMAD経路にて相反する作用を有する

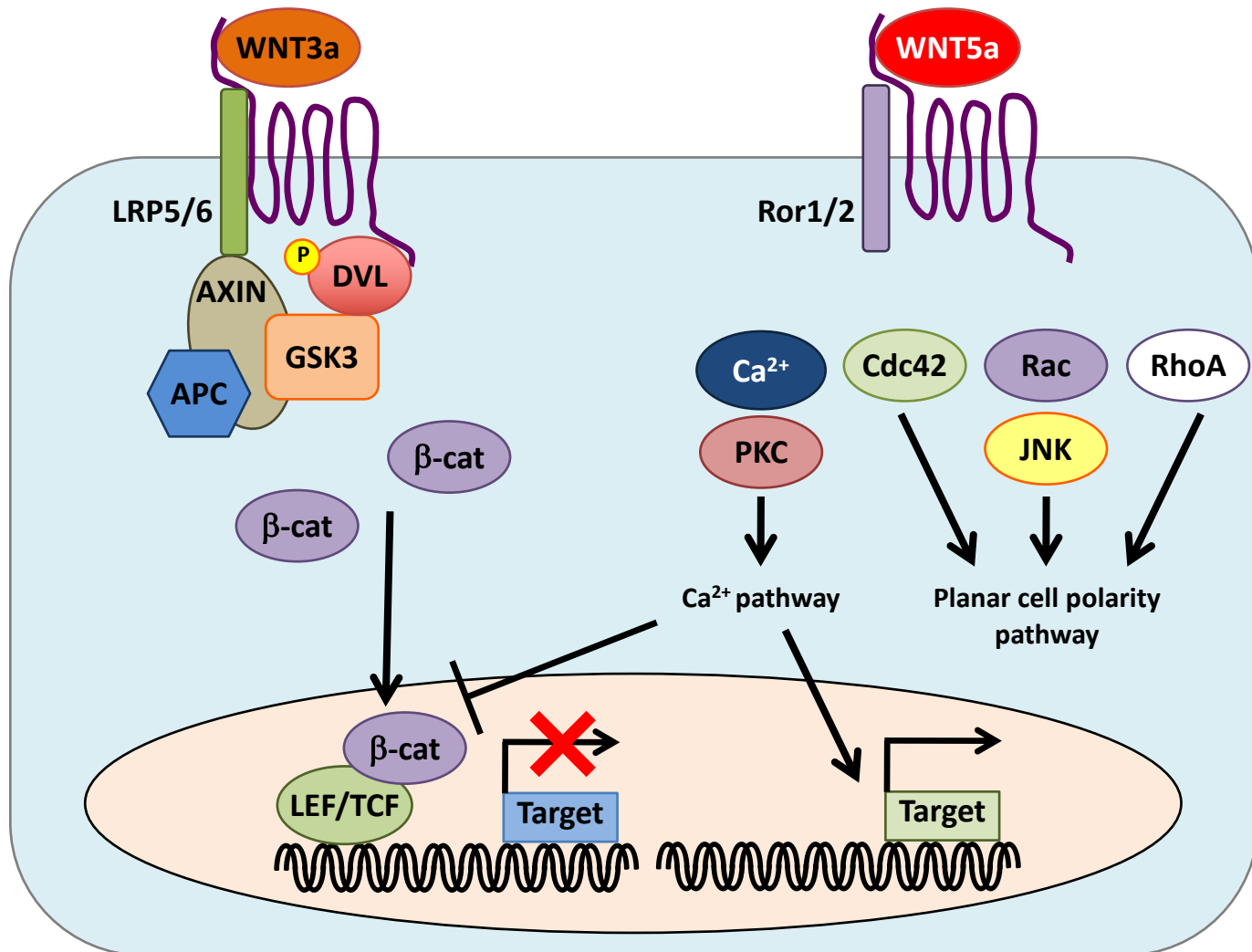


- ❖ HBZとSMAD2/3が結合する
- ❖ p300を標的遺伝子のプロモーターに誘導する

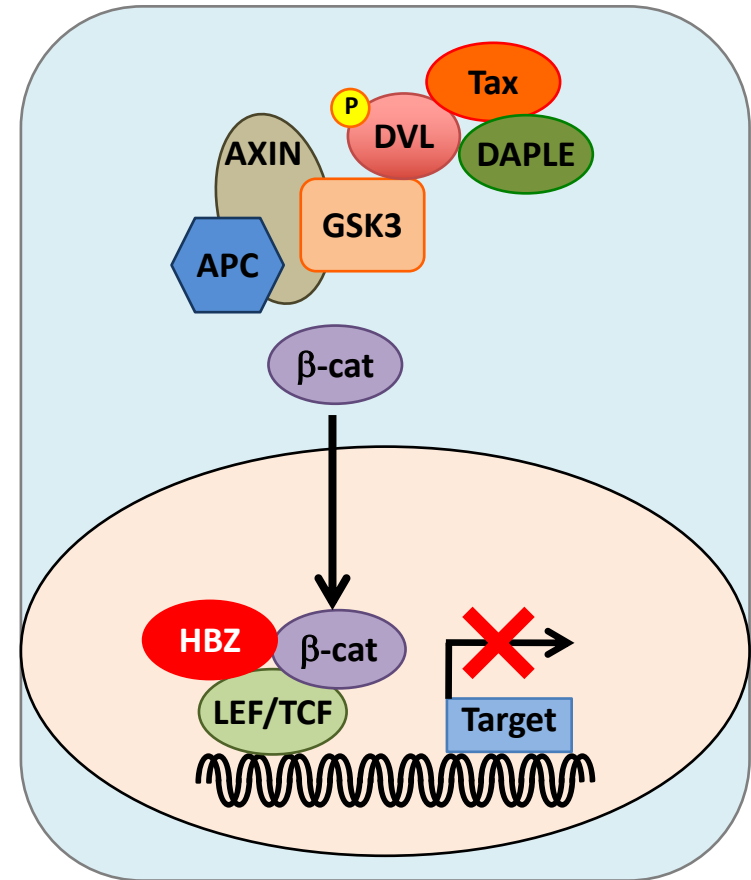
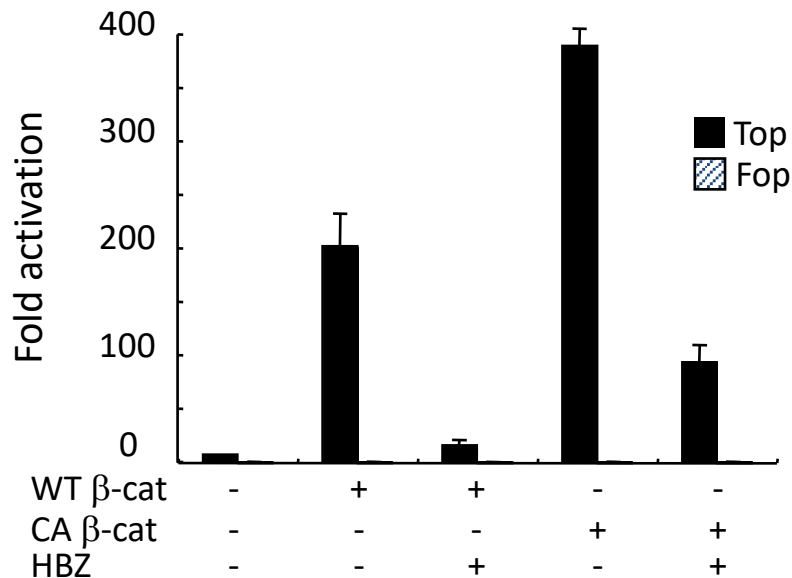
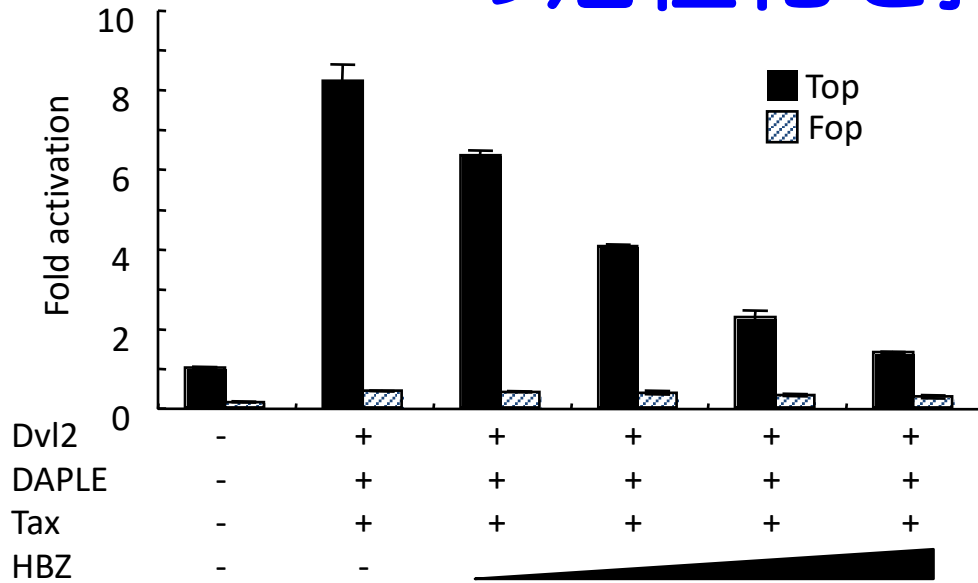
# 古典的Wnt 經路と非古典的Wnt 經路

古典的 Wnt 經路

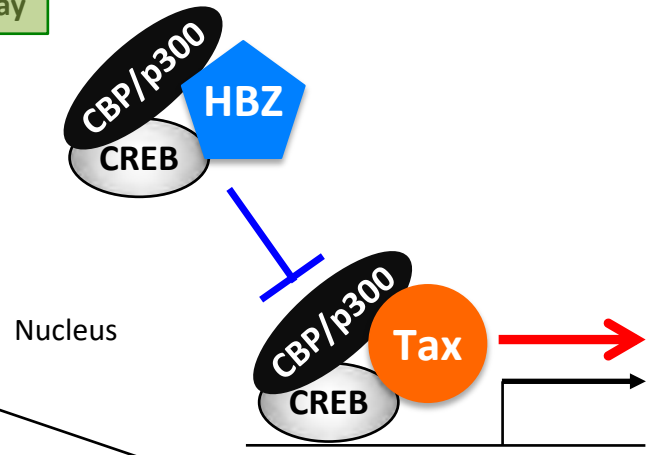
非古典的 Wnt 經路



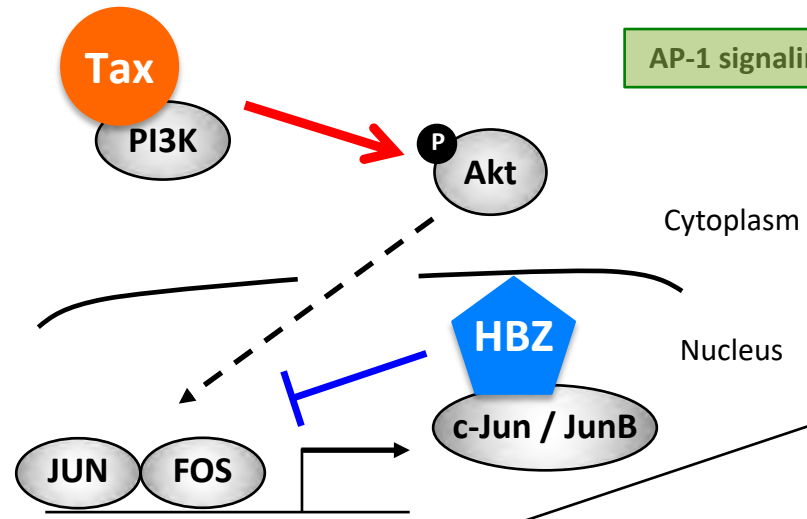
# HBZはTaxによる古典的Wnt経路の活性化を抑制する



CREB pathway

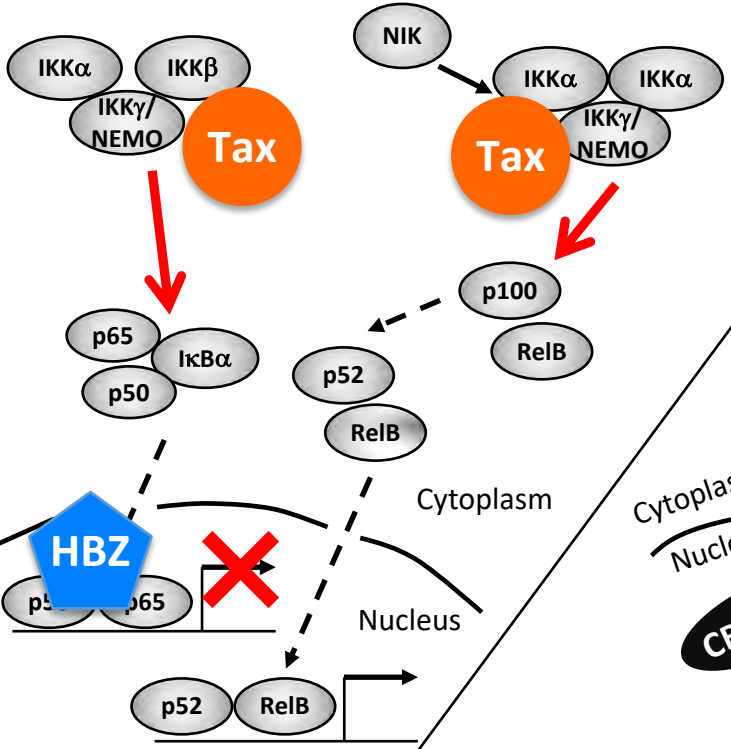


AP-1 signaling



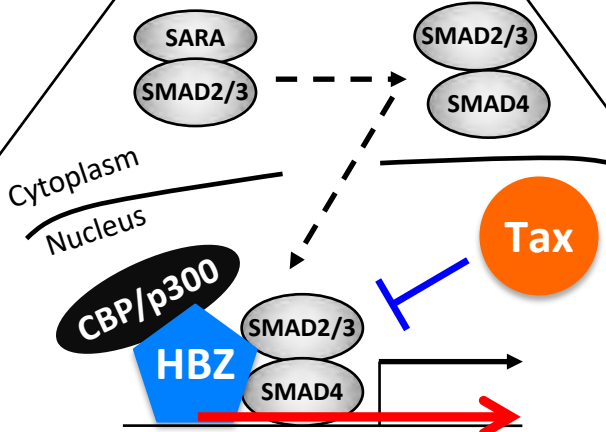
Classical NF-κB pathway

Alternative NF-κB pathway

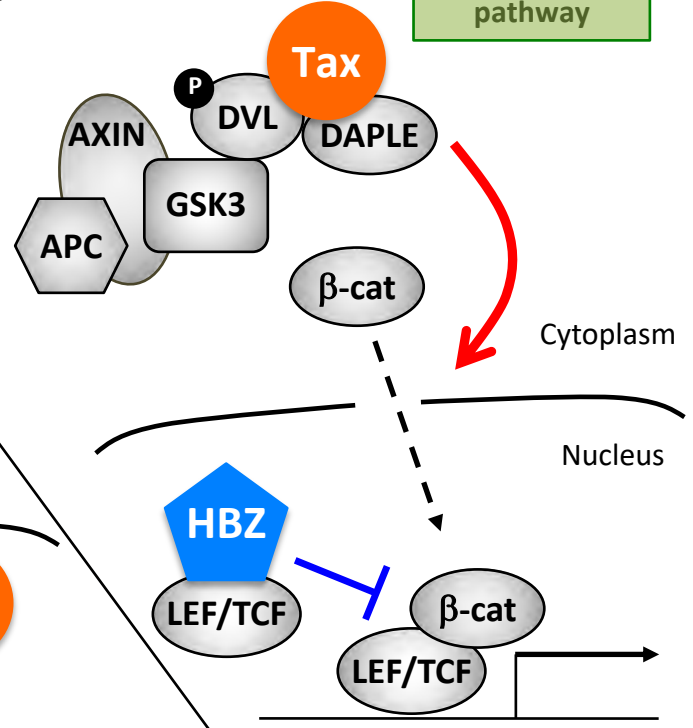


TaxとHBZの相反する機能

TGF-β / SMAD signaling



Wnt/β-catenin pathway



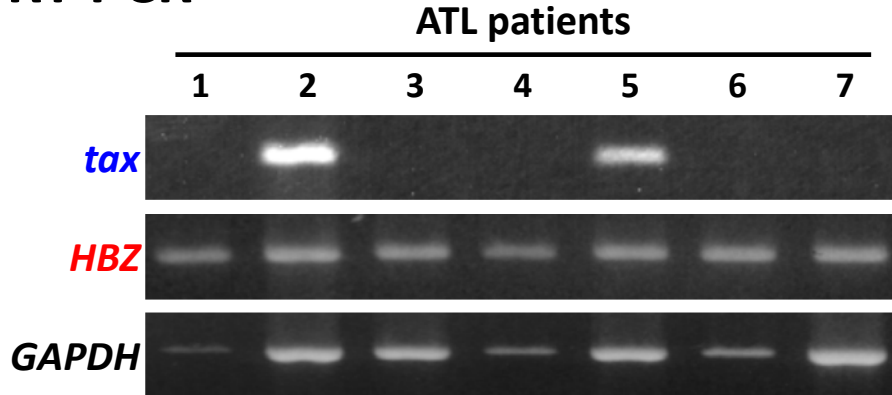
# まとめ（その1）

- TaxとHBZは炎症と発がんに重要な役割を果たしている。
- TaxとHBZは同じシグナル伝達経路、宿主因子を標的とし、多くの場合相反する機能を有している。
- HTLV-1感染細胞ではこれらの発現、機能は厳密に制御されていることが示唆される。



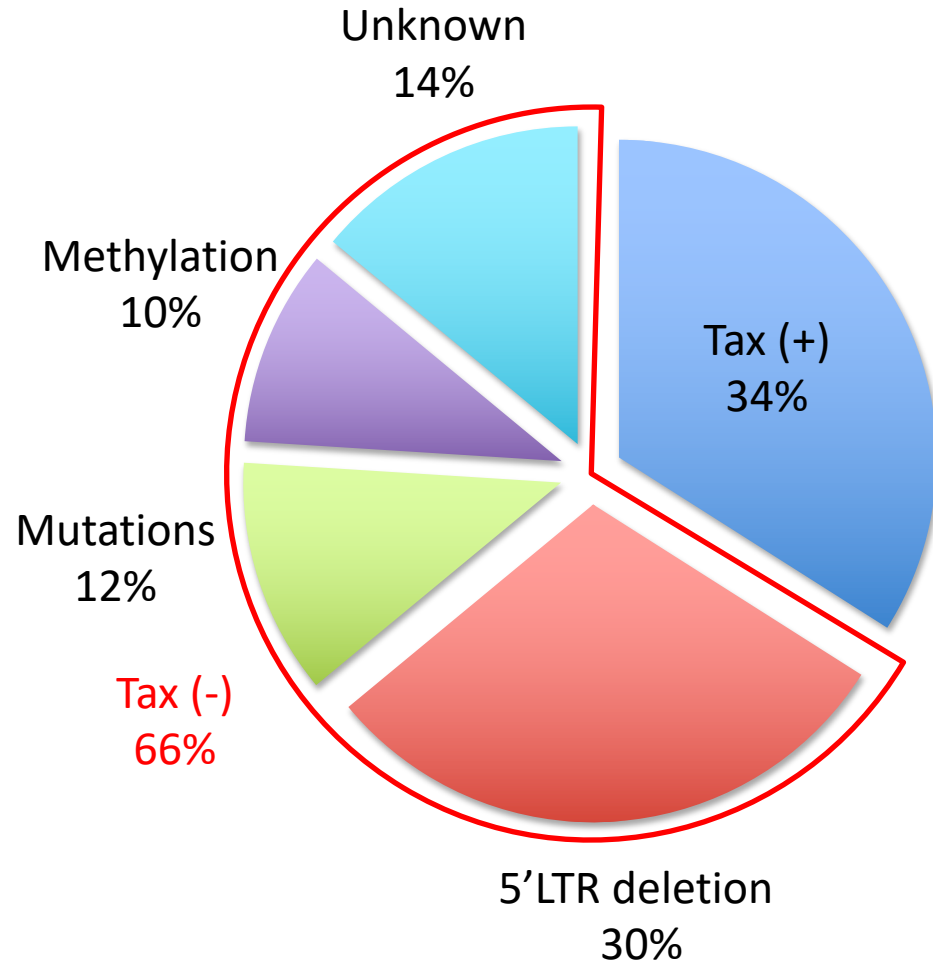
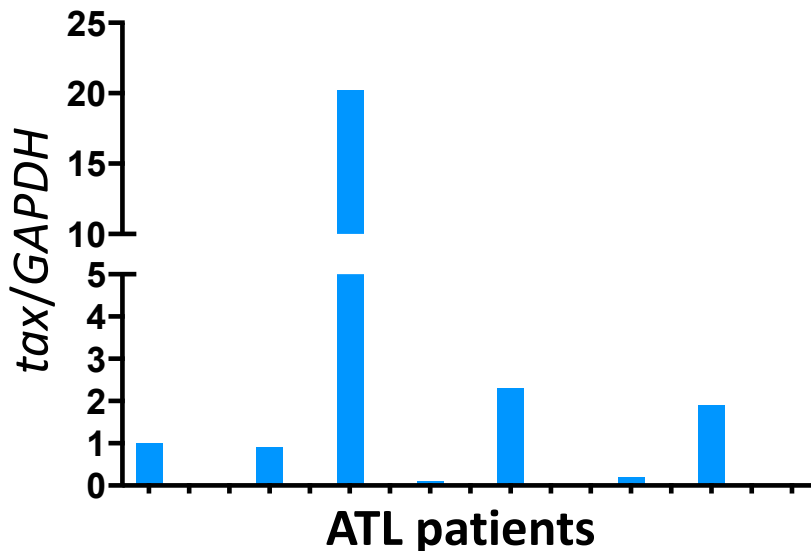
# TaxとHBZのATL細胞における発現

## RT-PCR



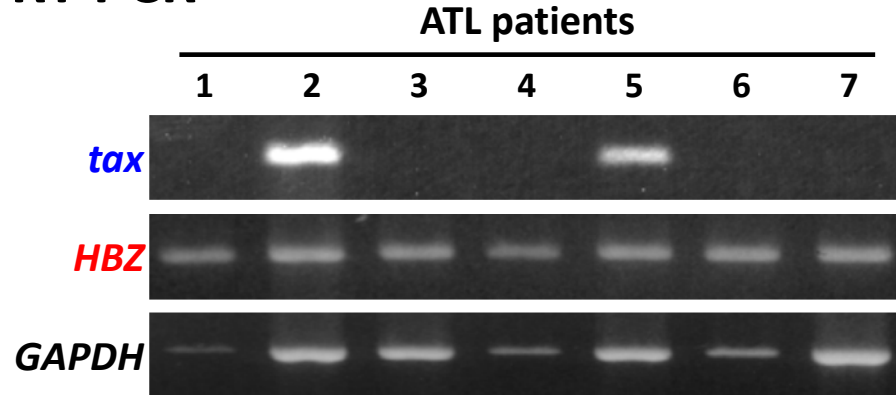
Satou Y et al, PNAS, 2006

## qRT-PCR



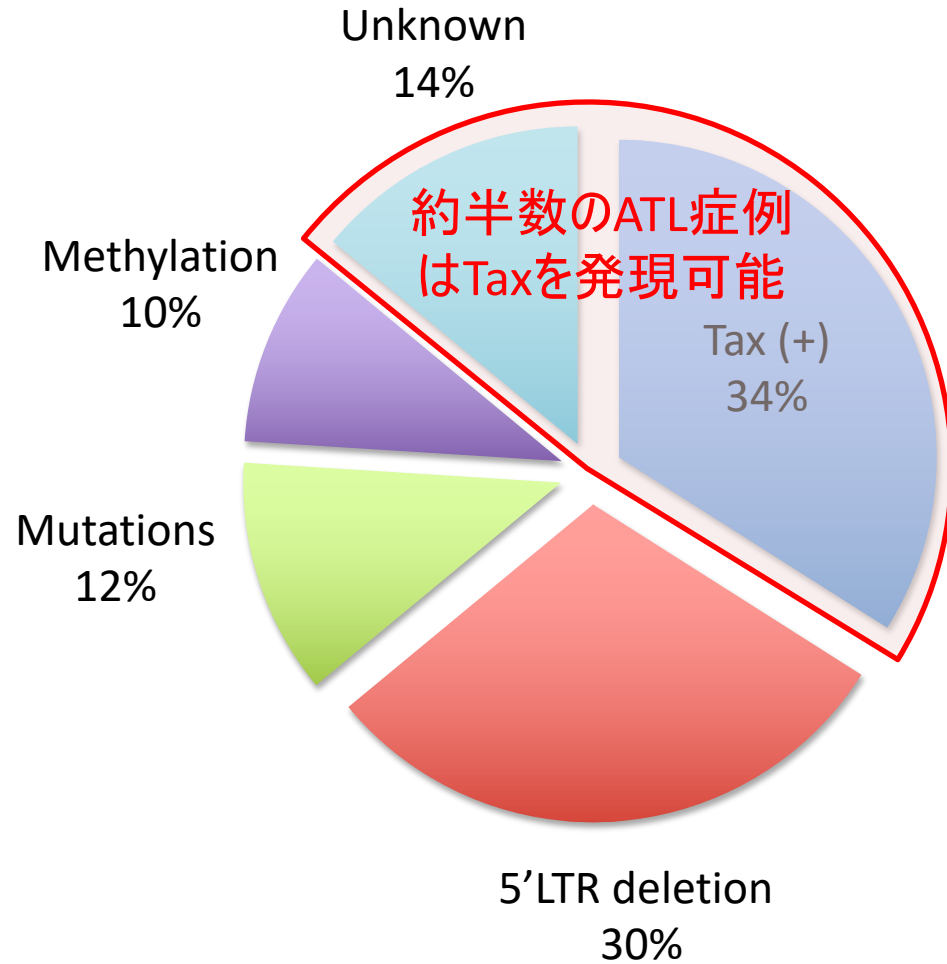
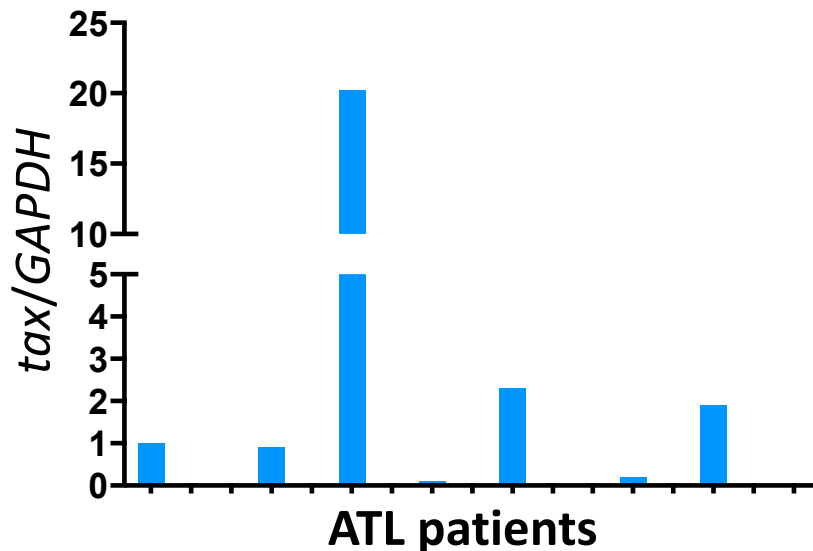
# TaxとHBZのATL細胞における発現

## RT-PCR



Satou Y et al, PNAS, 2006

## qRT-PCR



# ATL細胞株 MT-1はごく一部の細胞 がウイルス抗原を発現している

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*  
Vol. 78, No. 10, pp. 6476-6480, October 1981  
Medical Sciences

## Adult T-cell leukemia: Antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera

(immunofluorescence/lymphoid cell line/specific antibody/type C virus)

YORIO HINUMA\*, KINYA NAGATA\*, MASAO HANAOKA\*, MASUYO NAKAI†, TADASHI MATSUMOTO‡, KEN-ICHIRO KINOSHITA§, SHIGERU SHIRAKAWA¶, AND ISAO MIYOSHI||

\*Institute for Virus Research, Kyoto University, Kyoto 606, Japan; †Department of Microbiology, Osaka Medical College, Takatsuki Osaka 569, Japan; ‡Institute of Cancer Research, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan; §Atomic Disease Institute, Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki 852, Japan; ¶Department of Medicine, Faculty of Medicine Kyoto University, Kyoto 606, Japan; and ||Department of Internal Medicine, Kochi Medical School, Nankoku Kochi 781-51, Japan

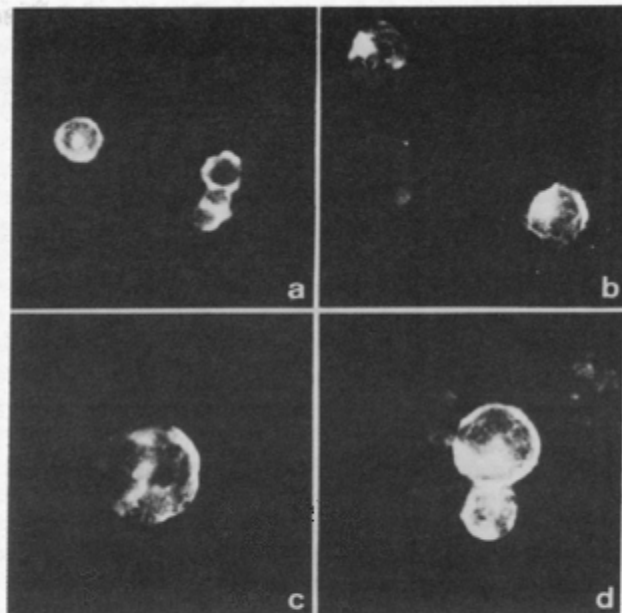


FIG. 2. Detection of ATLA in MT-1 cells by indirect immunofluorescence. Acetone-fixed MT-1 cells were treated with test serum from a patient having ATL and fluorescein-labeled anti-human IgG. Note fluorescent giant cells (c and d). (×550.)

Table 2. Effects of various chemicals on ATLA-positive cells in culture

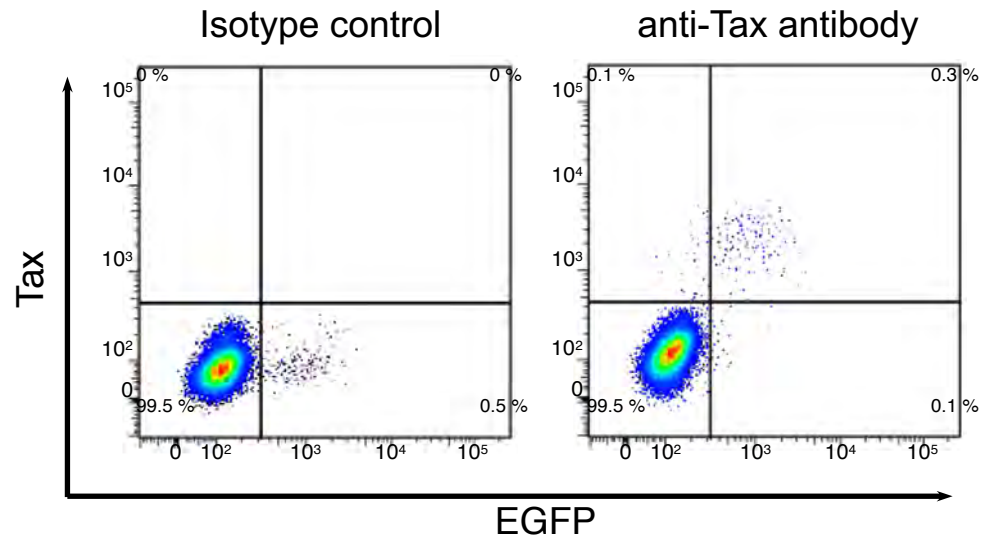
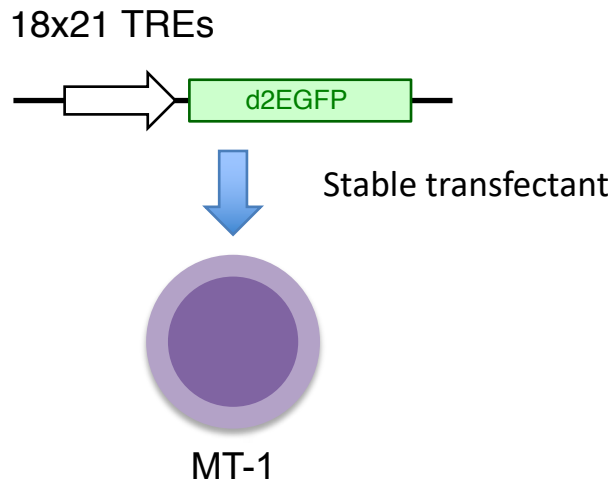
Chemical	% of ATLA-positive cells		
	Day 0	Day 3	Day 6
None	1.8	3.1	4.2
5-Iodo-2'-deoxyuridine (50 µg/ml)	1.8	15.1	11.5
Phorbol 12-myristate 13-acetate (20 ng/ml)	1.8	6.6	0.1
<i>n</i> -Butyrate (3 mM)	1.8	3.4	2.0
Phosphonoacetic acid (100 µg/ml)	1.8	4.4	4.5
Arabinonucleoside (10 µg/ml)	1.8	6.7	6.5

# MT-1の一部がTaxを発現している

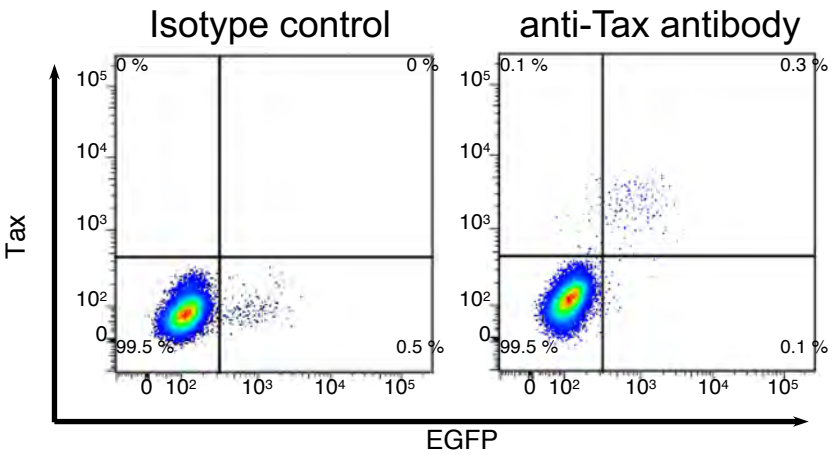
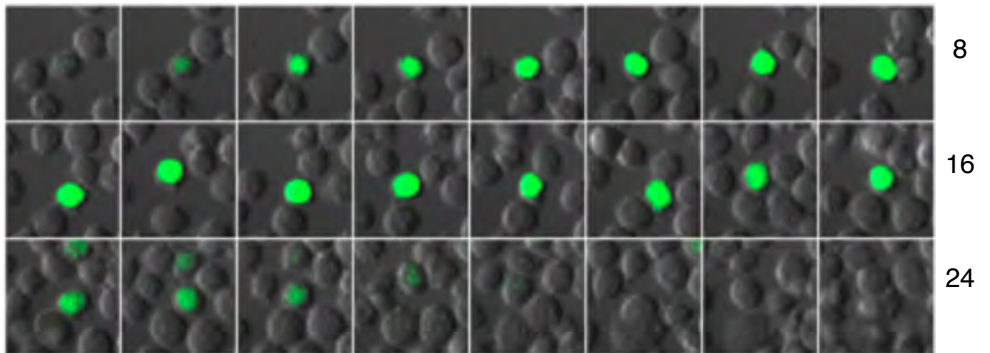
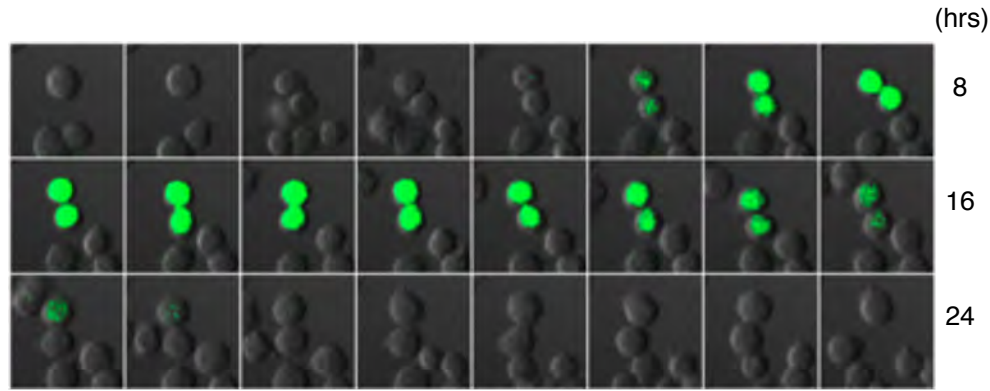
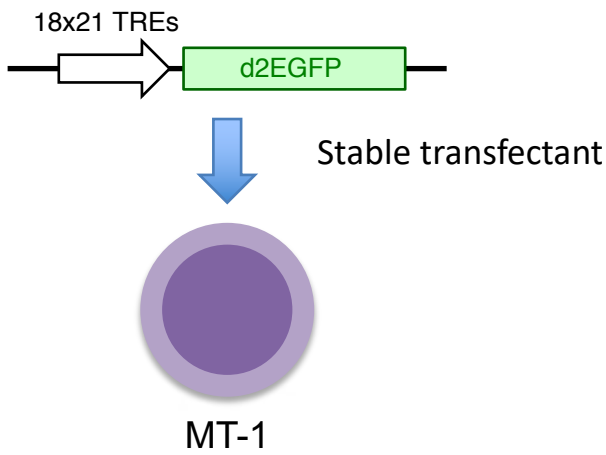
## Single-cell qRT-PCR



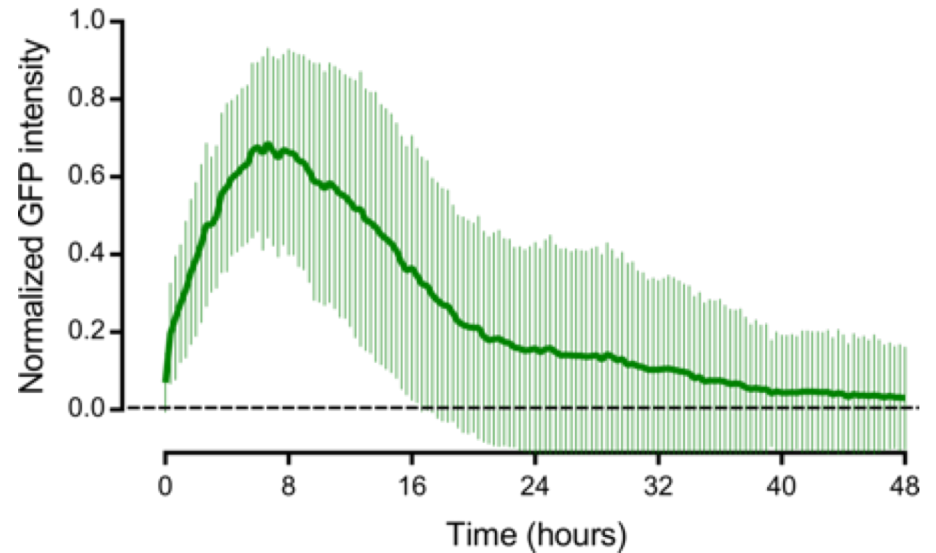
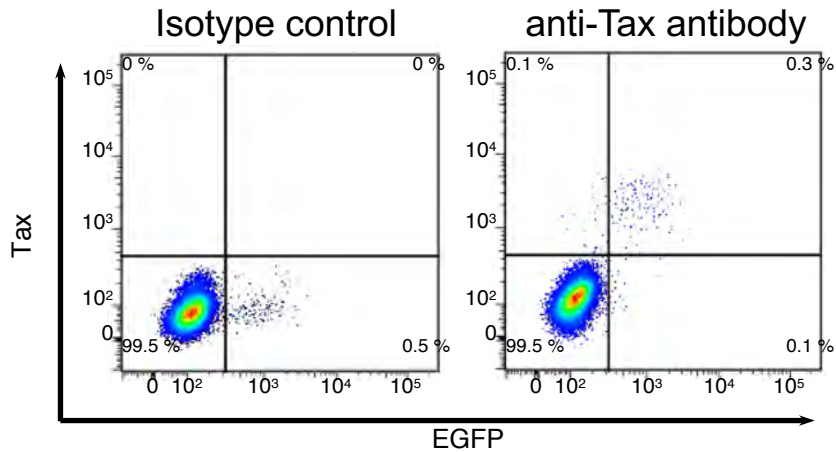
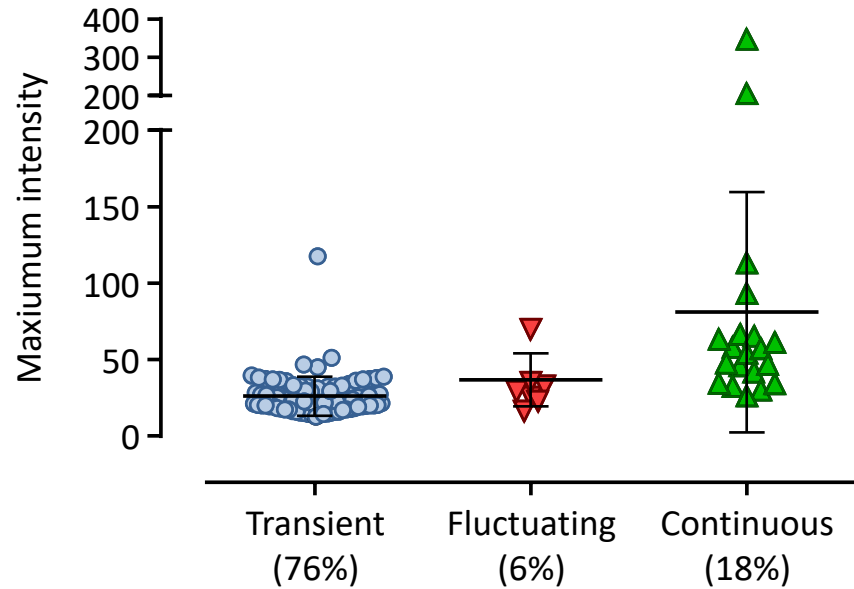
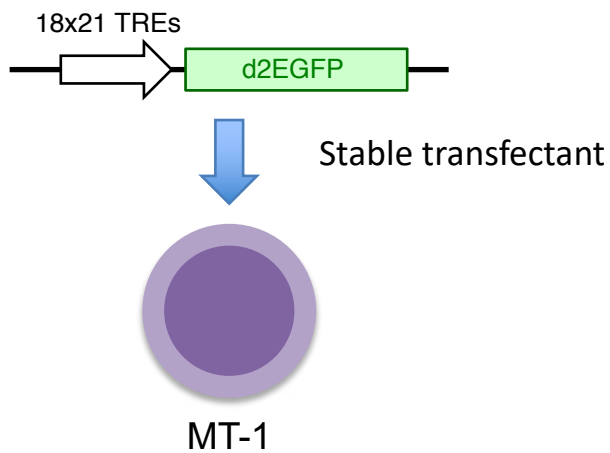
## Tax protein



# MT-1の一部がTaxを発現している



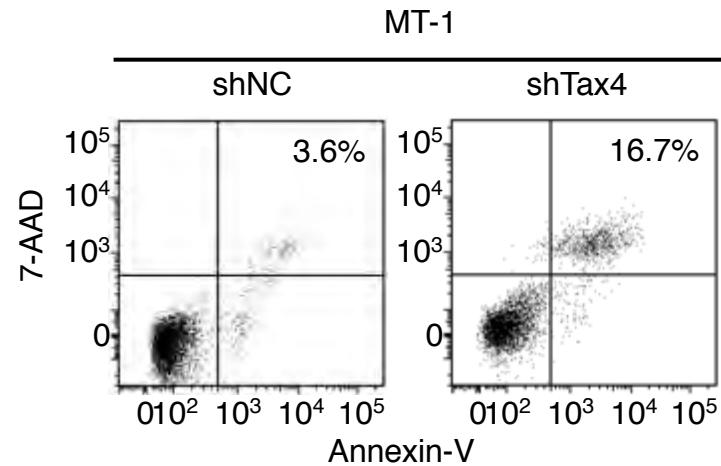
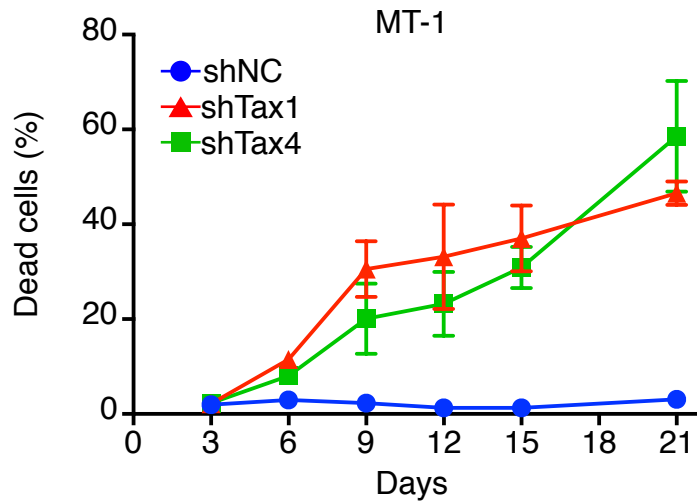
# Taxの発現は一過性である



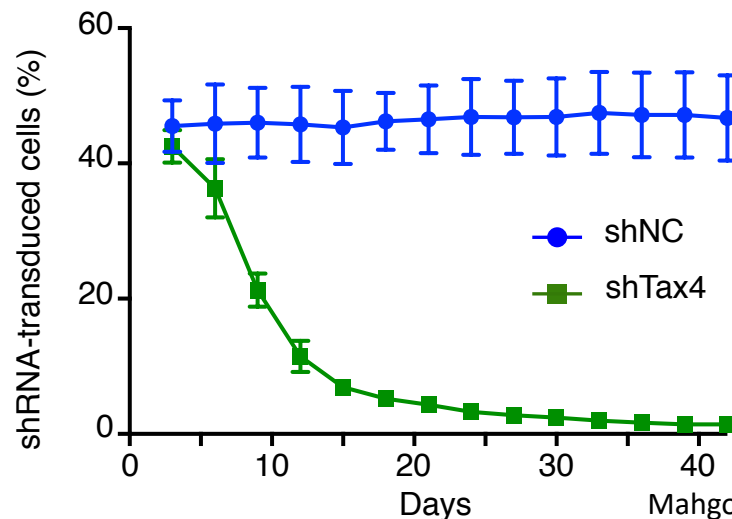
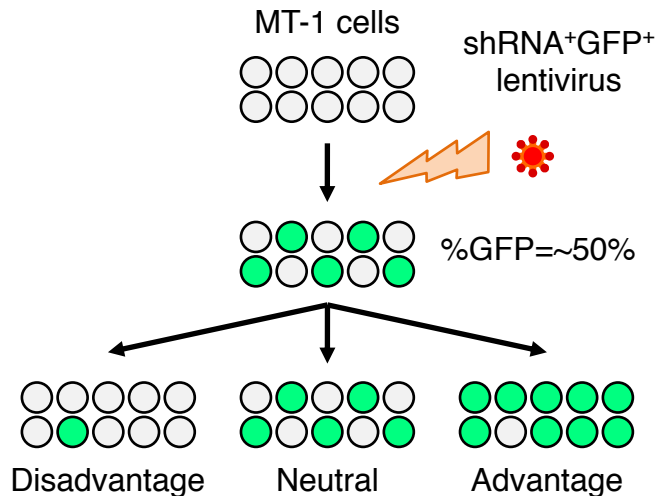


# 一部の細胞に発現するTaxは細胞集団全体の生存に必須である

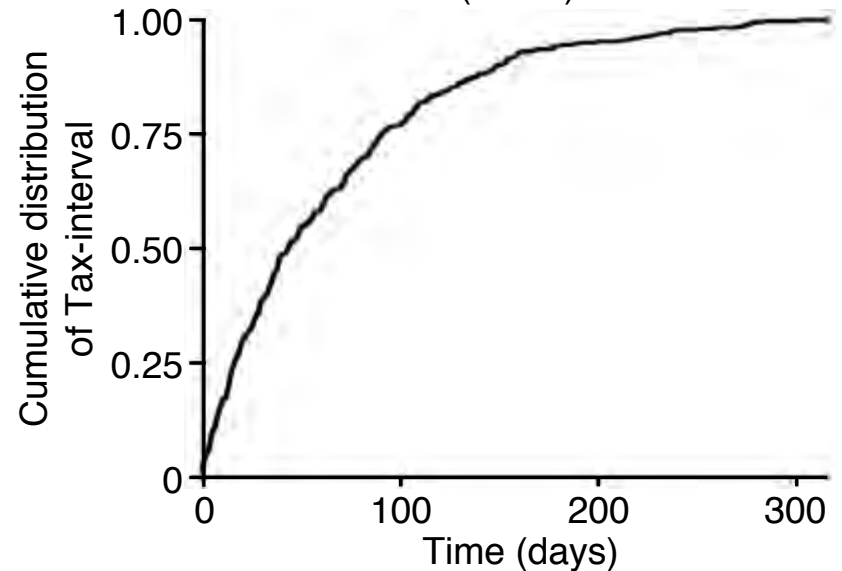
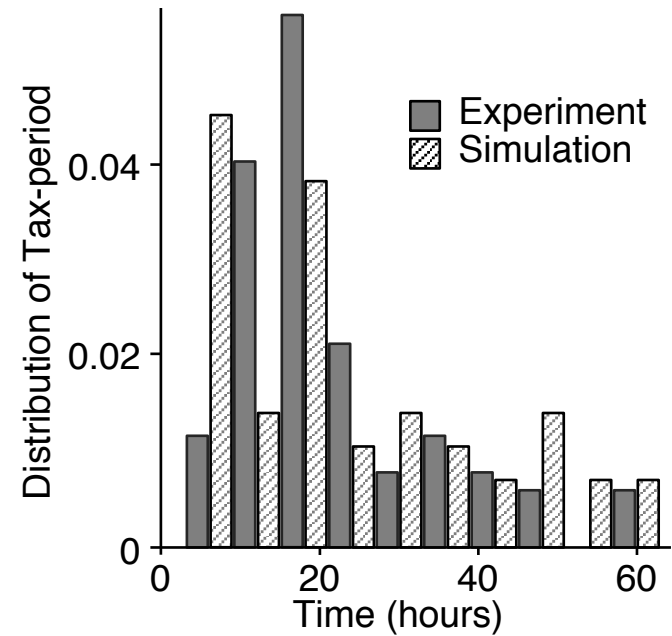
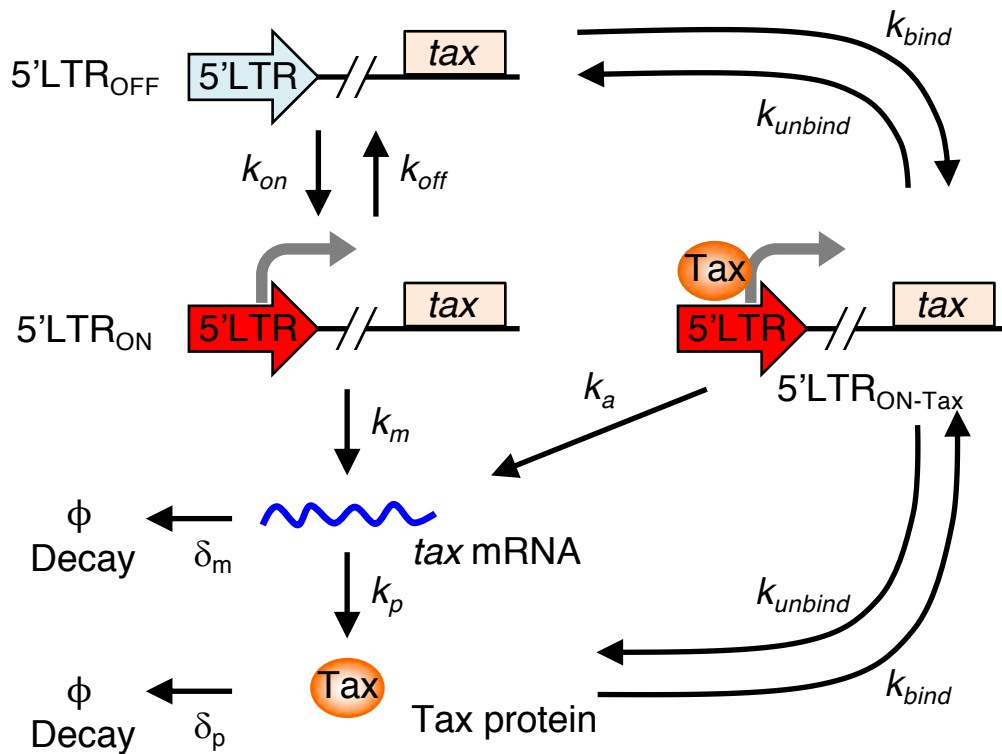
## Tax knockdown



## GFP competition assay

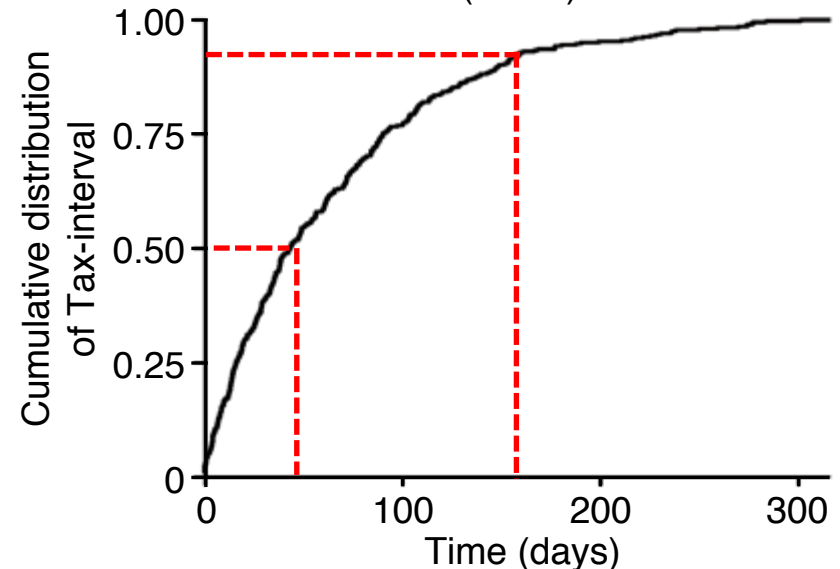
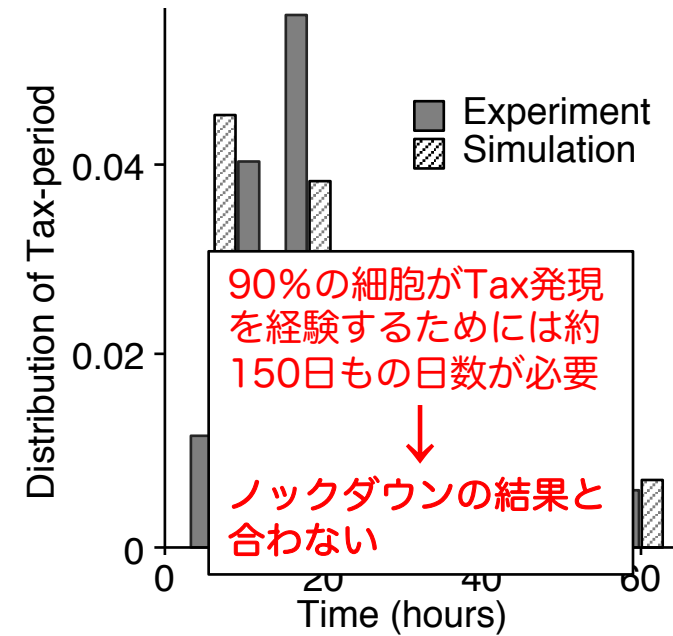
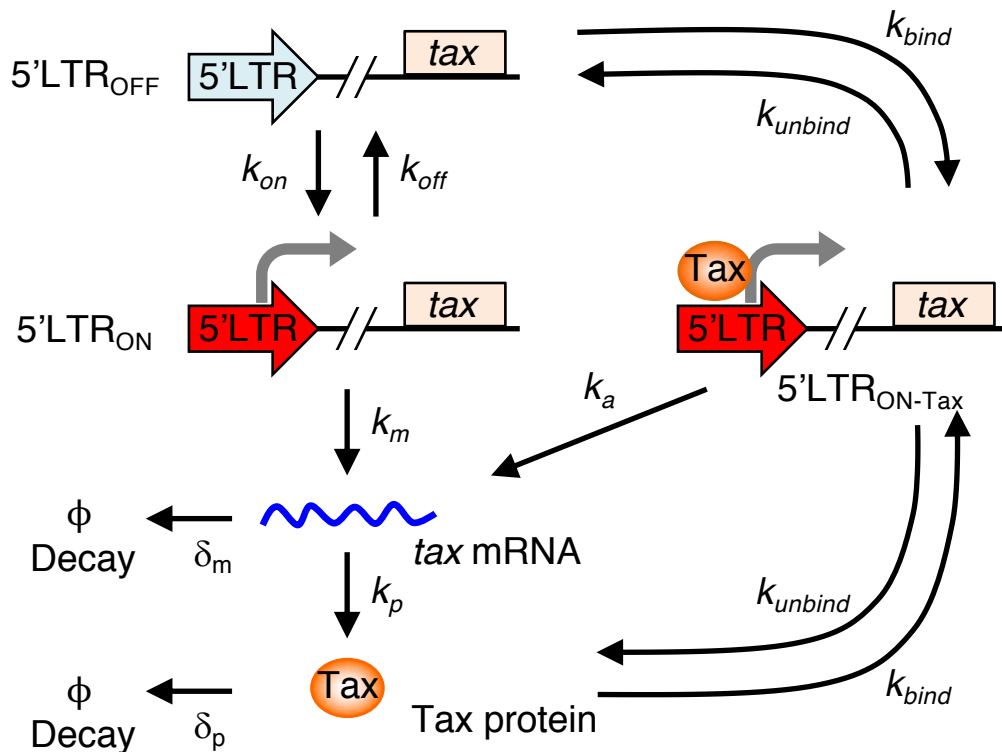


# Tax発現の数理モデル化と コンピューターシミュレーション



九州大学数理生物学、岩見真吾先生との共同研究

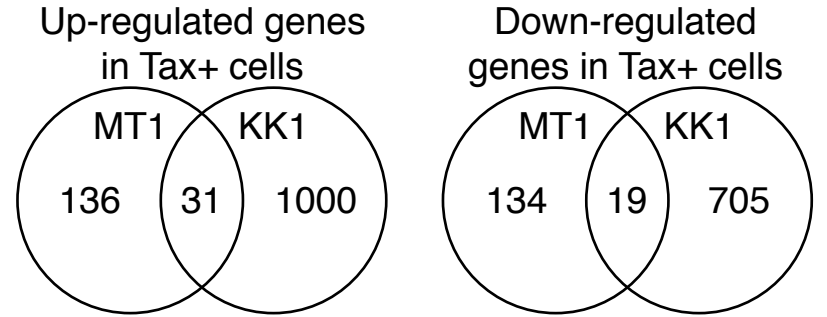
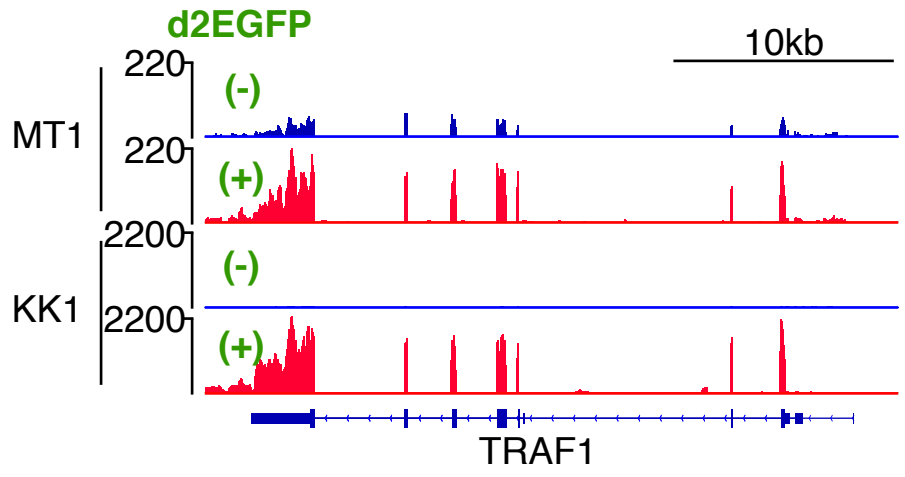
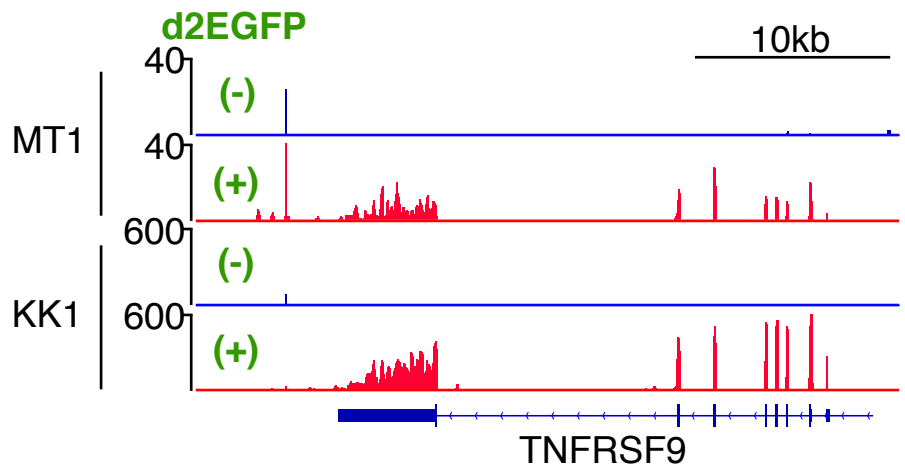
# Tax発現の数理モデル化と コンピューターシミュレーション



九州大学数理生物学、岩見真吾先生との共同研究

# Tax発現細胞と非発現細胞 (HBZ発現細胞) における網羅的発現解析

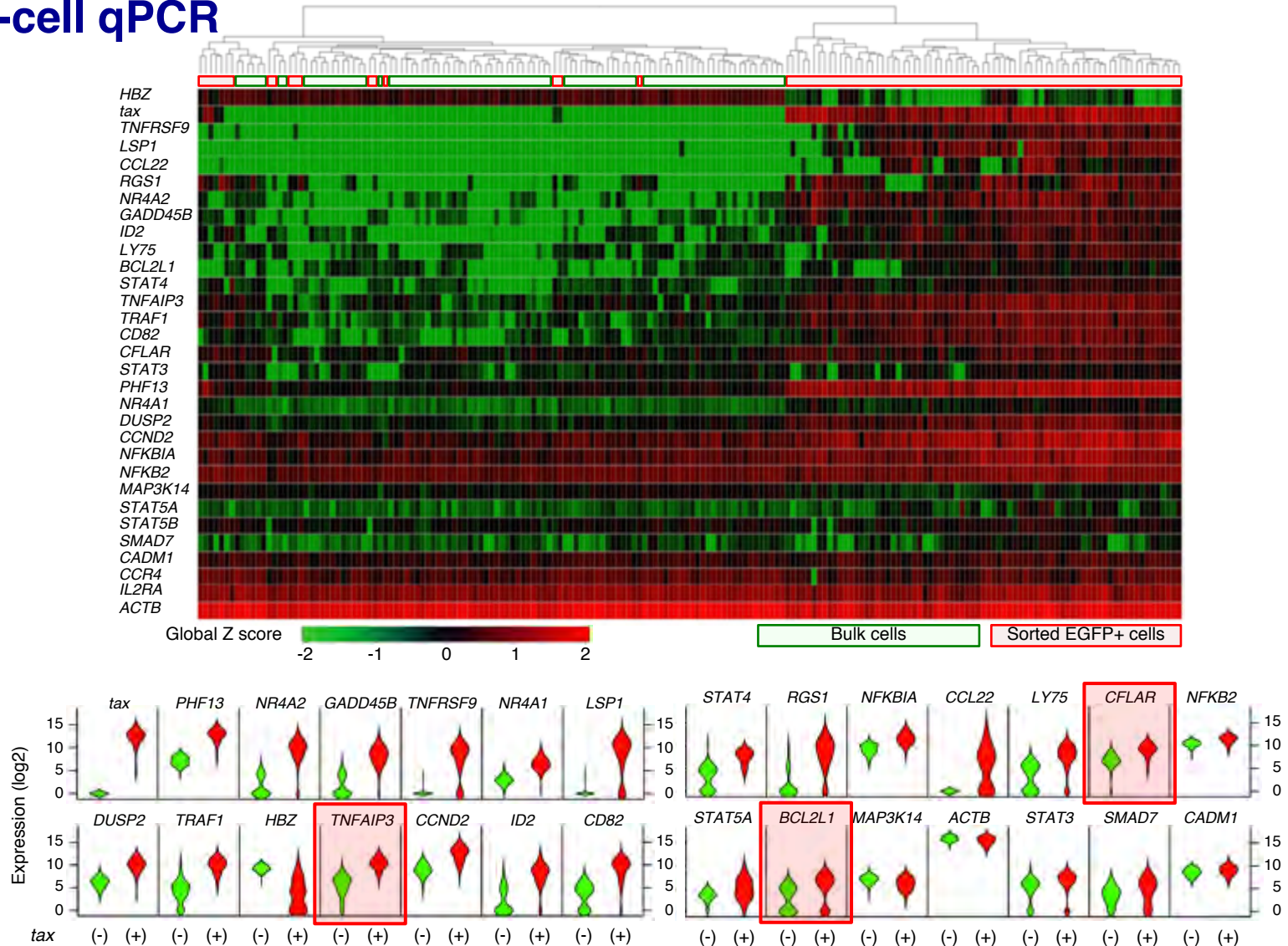
## RNA-seq



Upstream Regulator	MT1		KK1	
	Activation z-score	p-value of overlap	Activation z-score	p-value of overlap
IL1B	2.754	4.82E-03	3.943	2.18E-05
EZH2	2.359	1.07E-03	2.155	1.52E-03
TLR2	2.193	3.45E-03	2.511	1.58E-06
TLR4	2.166	8.60E-04	3.043	7.80E-06
RELA	2.164	2.97E-03	2.640	8.56E-06
PDGF BB	2.121	3.41E-05	3.901	4.69E-05
NFκB (complex)	2.086	1.36E-03	4.494	7.75E-06
ECSIT	2.000	7.95E-04	3.148	1.26E-04
CCL5	2.000	4.44E-03	2.530	6.52E-03
MITF	-2.000	2.93E-02	-3.283	1.21E-05
CD28	-2.118	1.12E-02	-3.238	1.48E-04
CD3	-2.754	2.40E-04	-3.993	1.28E-04

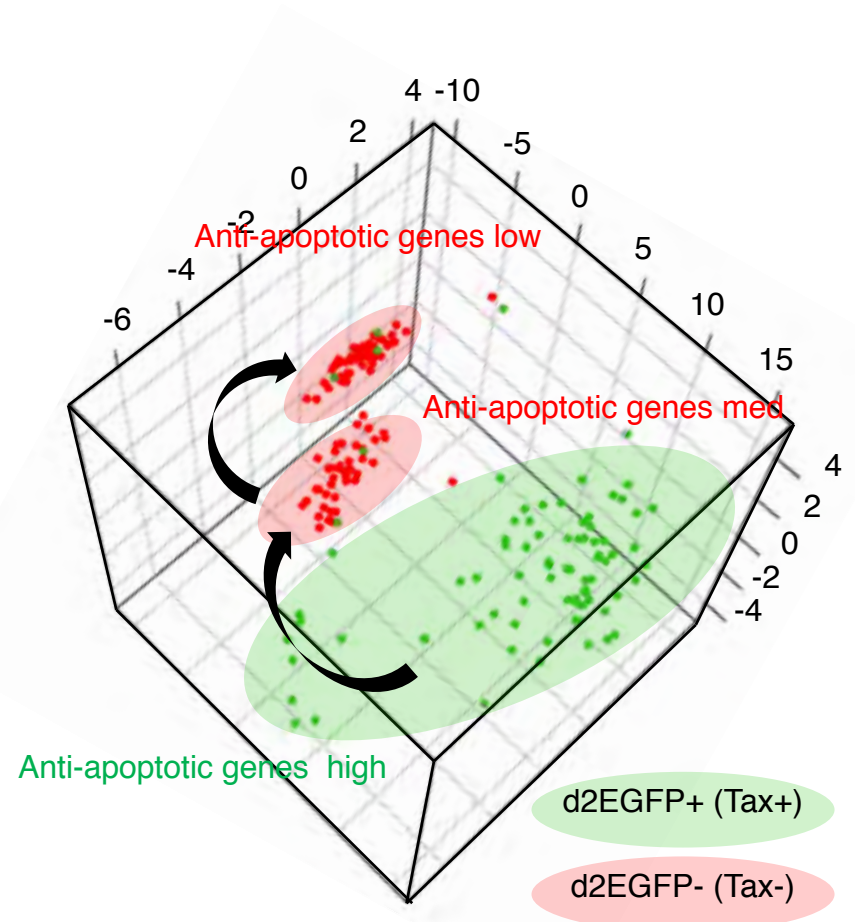
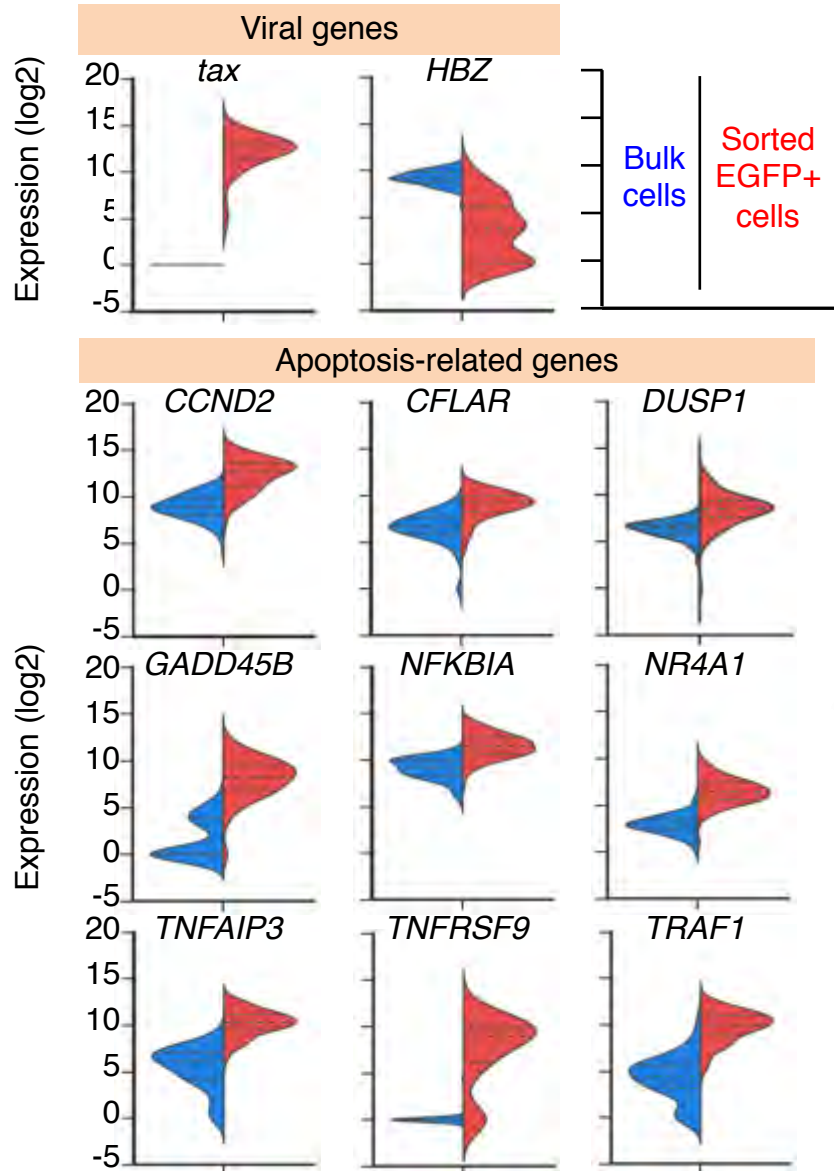
# Tax発現細胞では抗アポトーシス遺伝子の発現が上昇している

## Single-cell qPCR

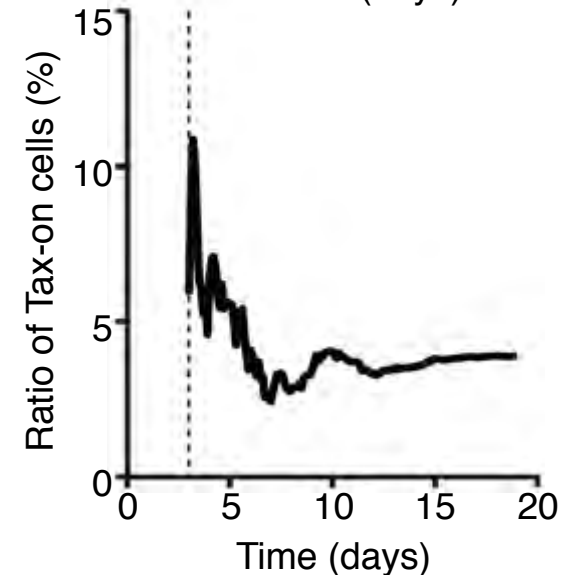
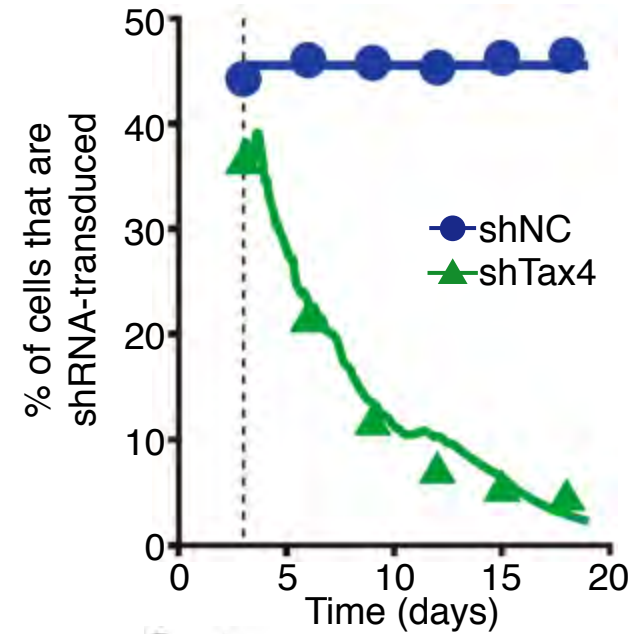
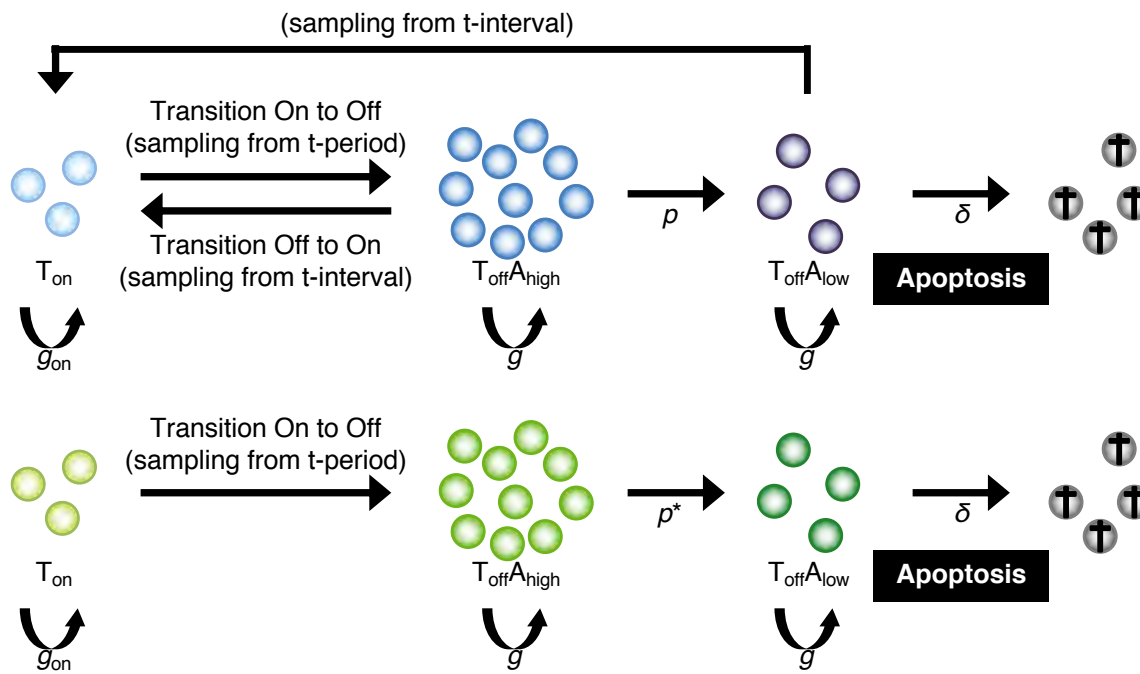




# Tax非発現細胞はアポトーシス関連分子の発現が異なる2つの集団が存在する



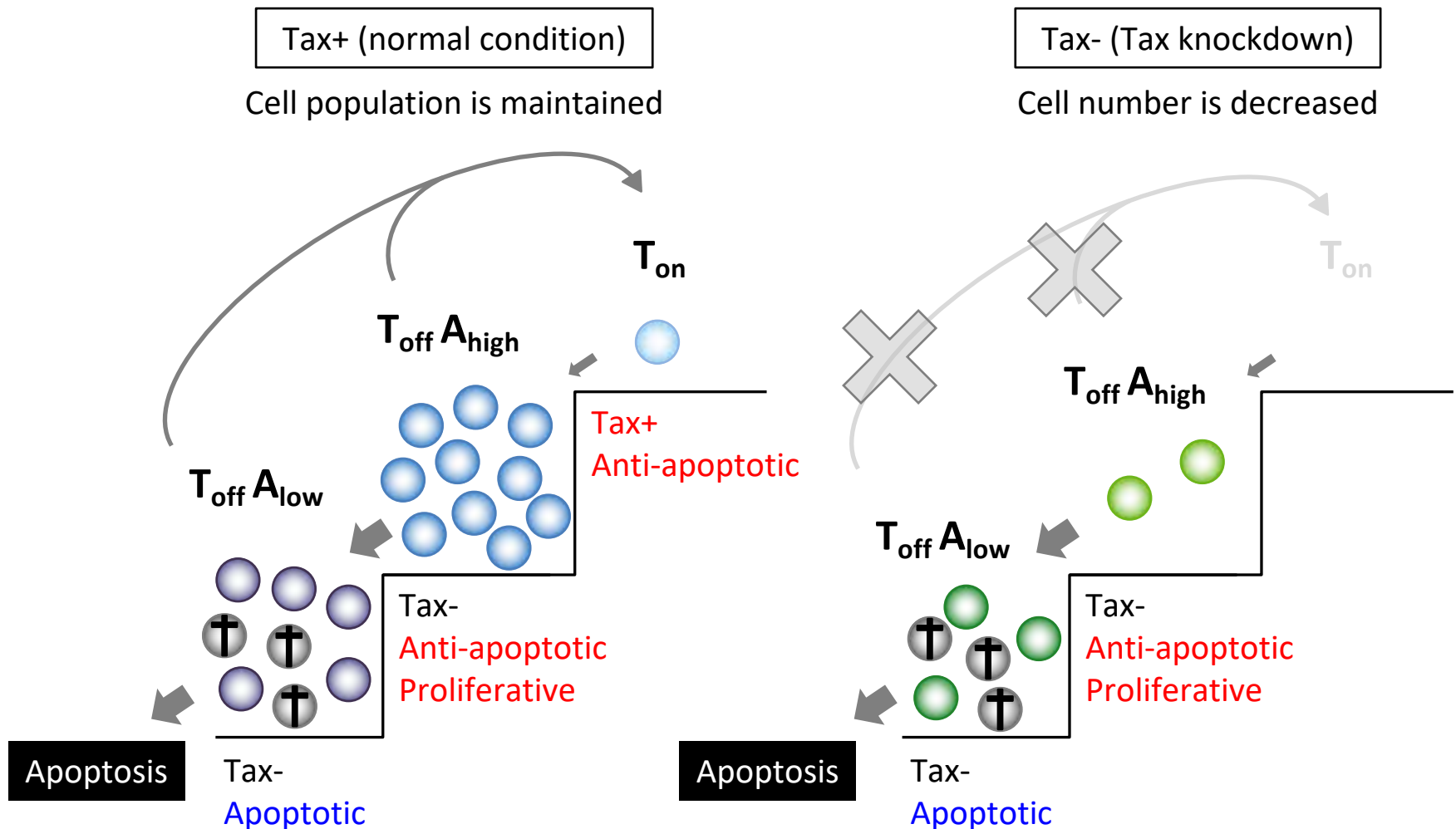
# Taxノックダウンによる細胞死誘導のシミュレーション



九州大学数理生物学、岩見真吾先生との共同研究

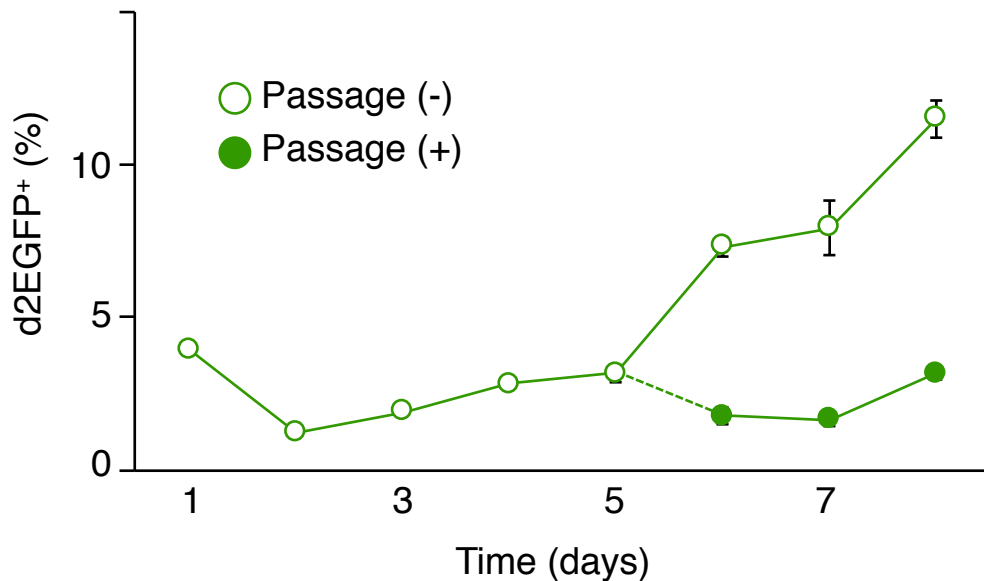
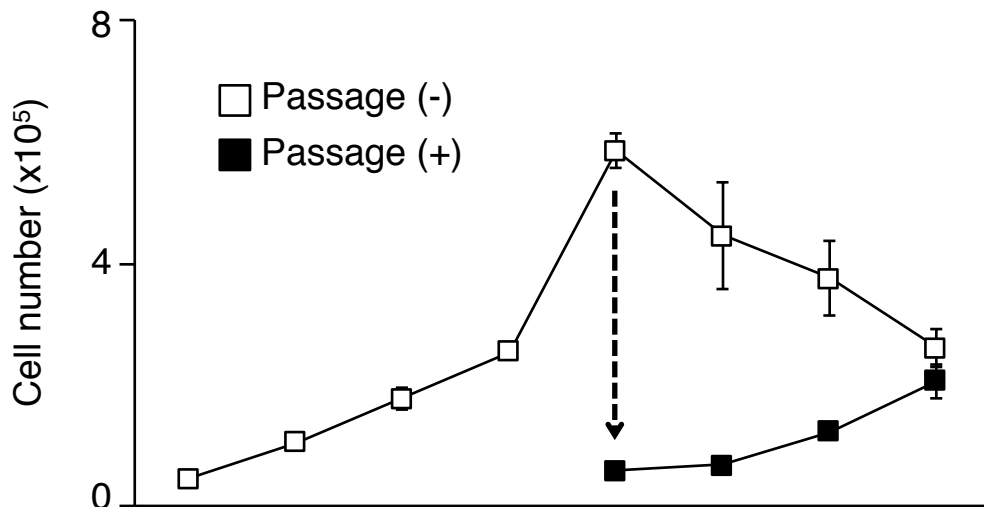


# TaxによるATL細胞集団の維持機構

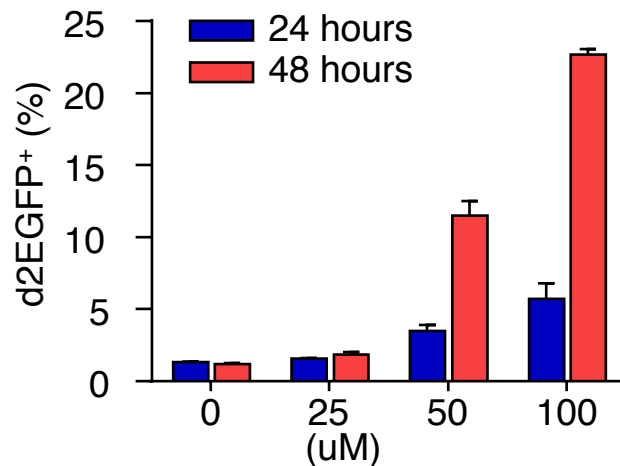


# Taxはストレスによって誘導される

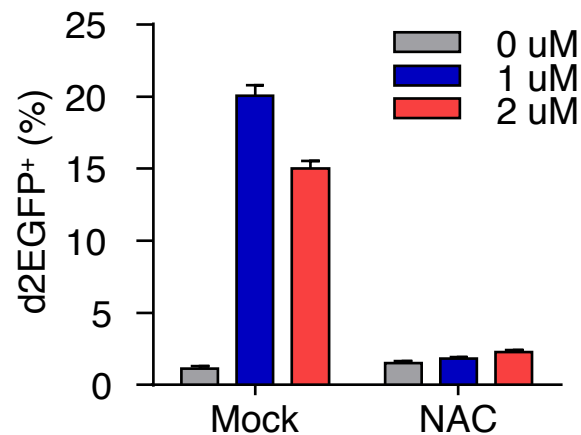
## Overgrowth



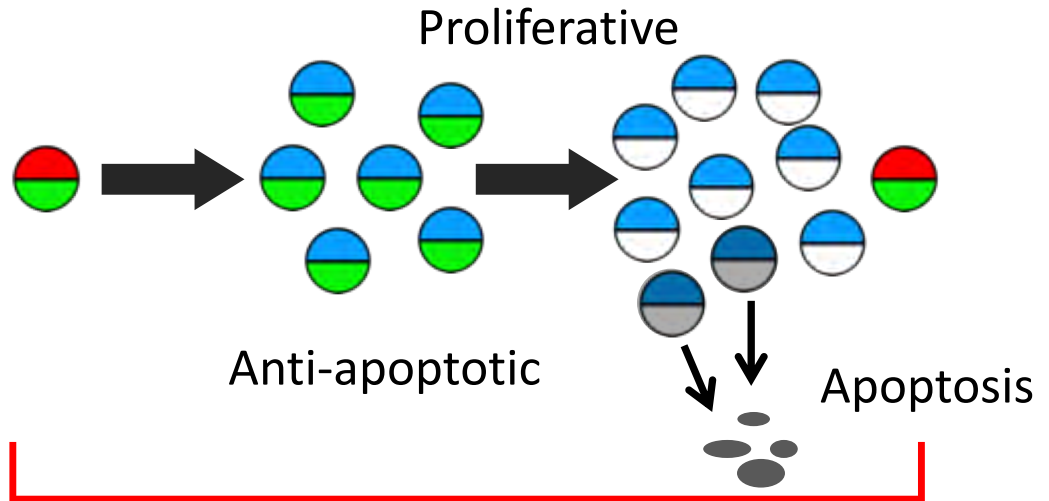
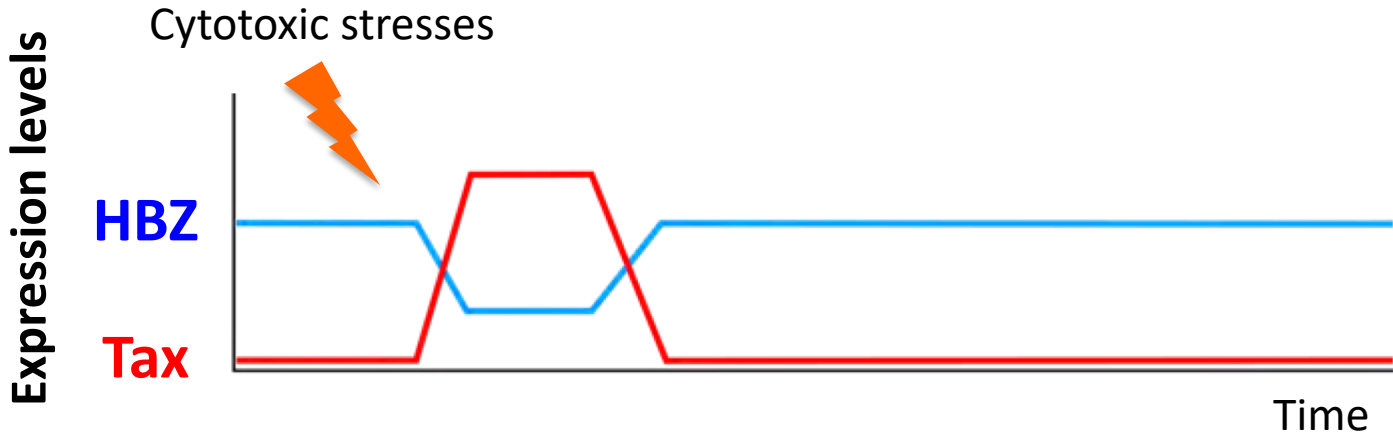
## H2O2



## Cisplatin

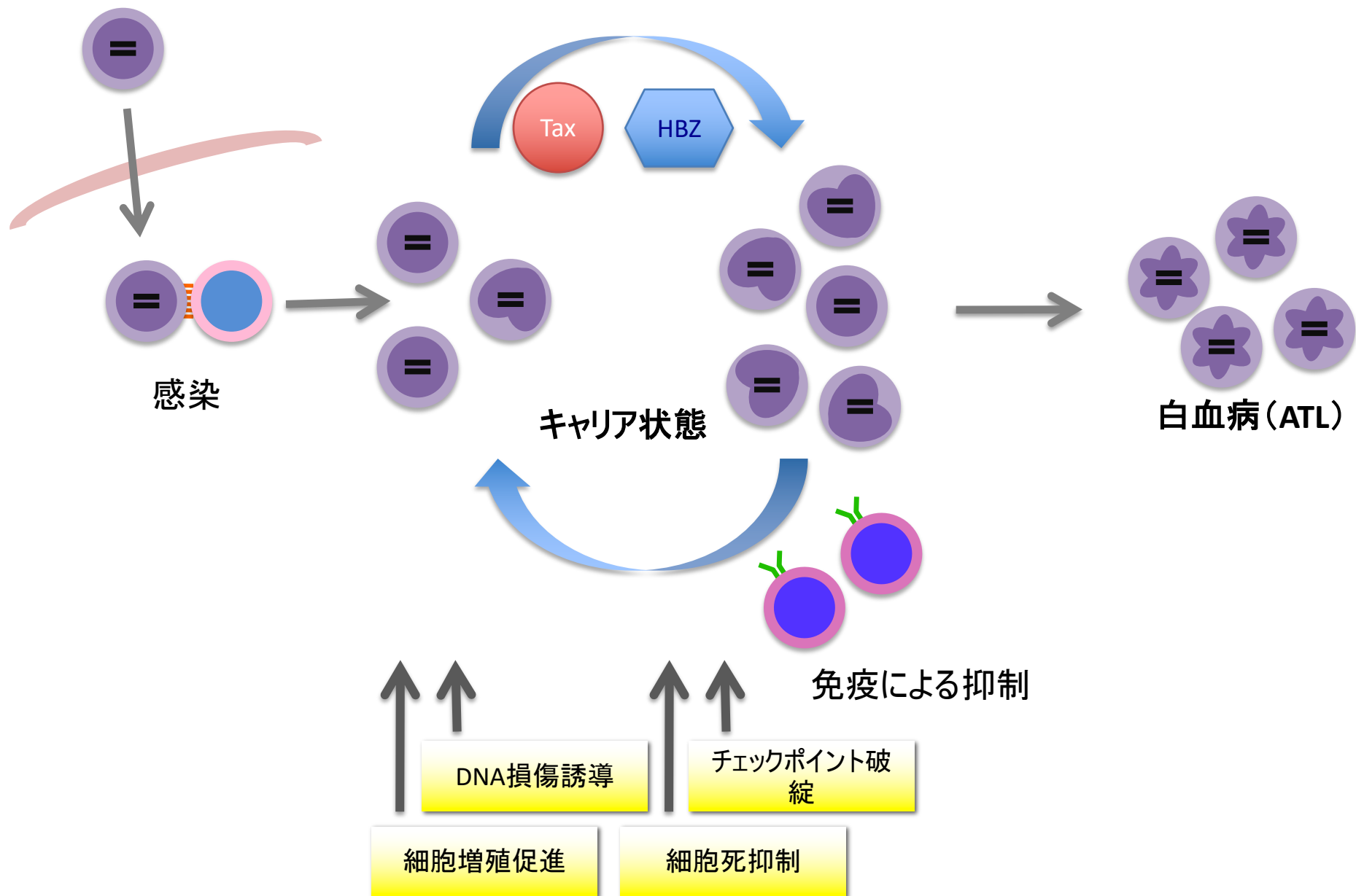


# まとめ (その2)



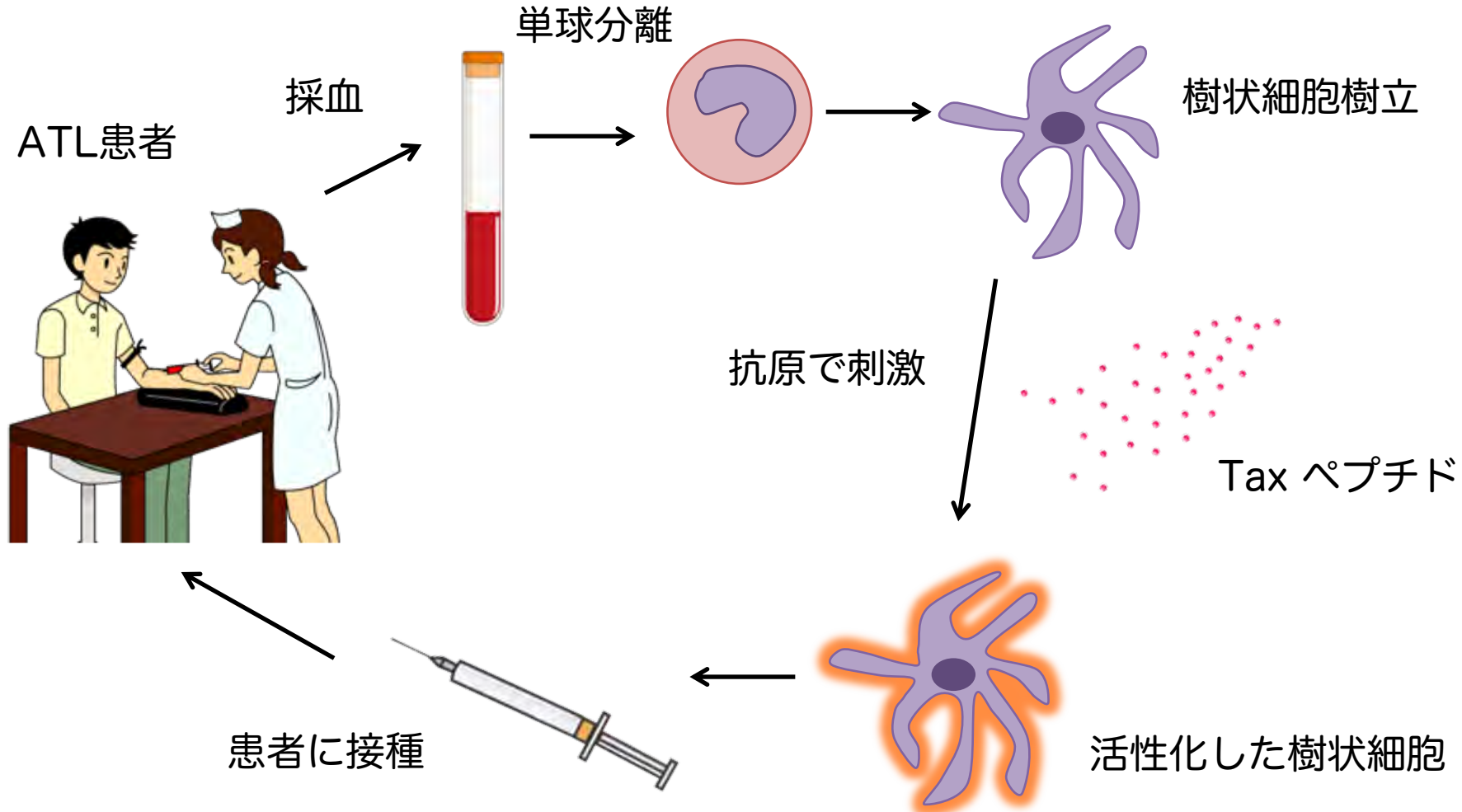
細胞集団の生存、増殖が維持される

# HTLV-1感染から発がんまでの経過



# 治療への展開：治療ワクチン開発の試み

九州がんセンター、九州大学などの施設で医師主導治験「成人T細胞白血病/リンパ腫の治癒を目指したHTLV-1ウイルス標的樹状細胞ワクチン療法の確立: 薬事承認を目的とした第II相医師主導治験」が行われている



# ワクチン開発に有用な霊長類モデル STLV-1感染ニホンザル

サルT細胞白血病ウイルス1型(STLV-1)はHTLV-1と非常に近い近縁ウイルス

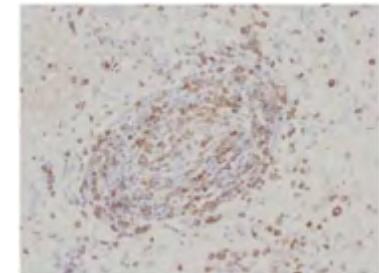
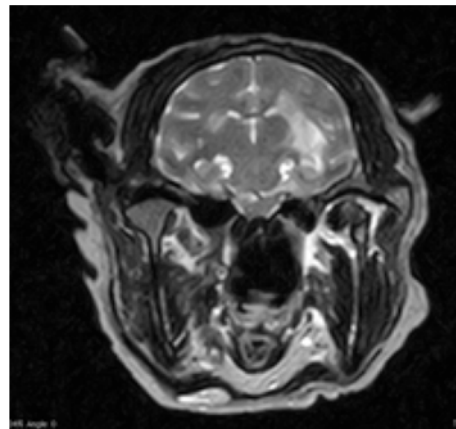
抗体陽性率(京都大学霊長類研究所)

320/533 (60%)

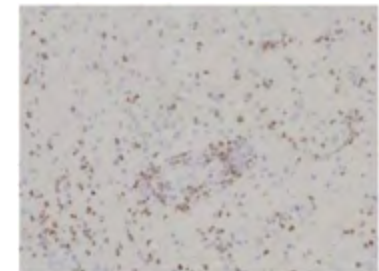
STLV-1に自然感染して  
いるニホンザル



脳にできたリンパ腫

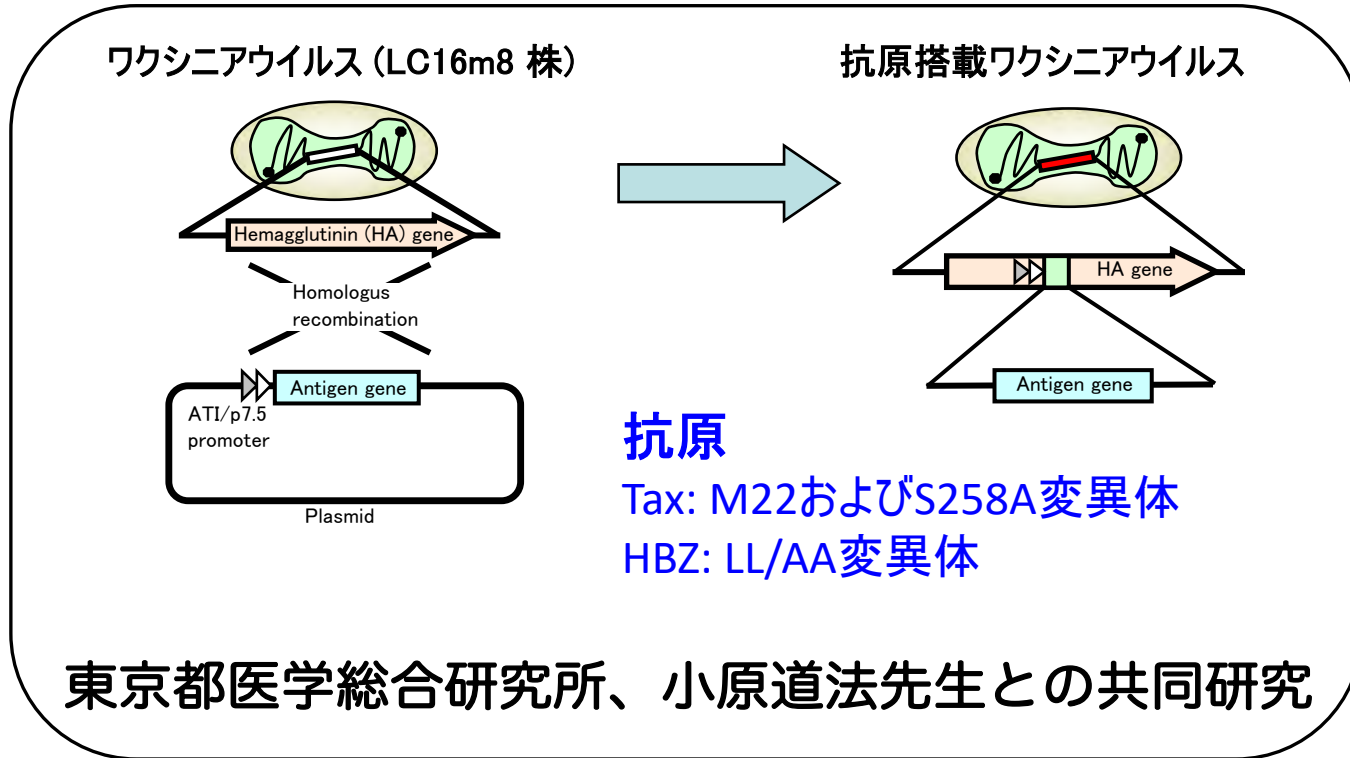


CD3

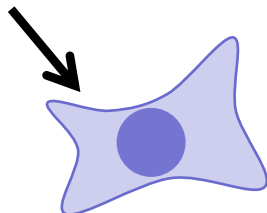
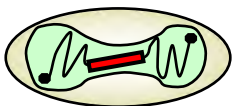


CD4

# TaxおよびHBZ (SBZ)搭載ワクシニアウイルス

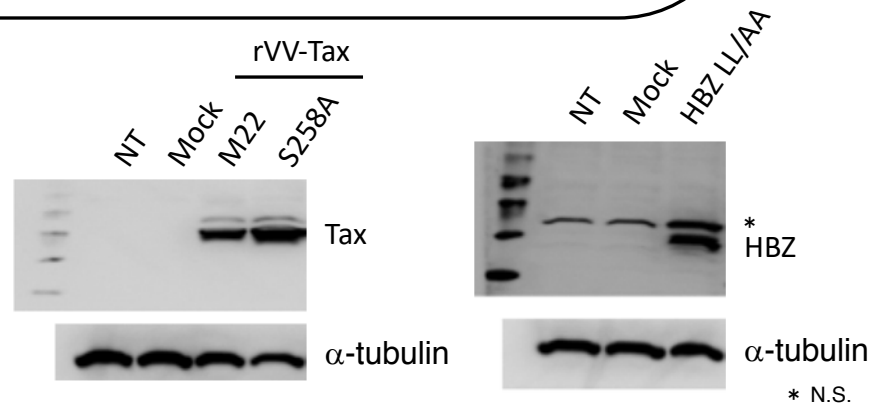


抗原搭載VV



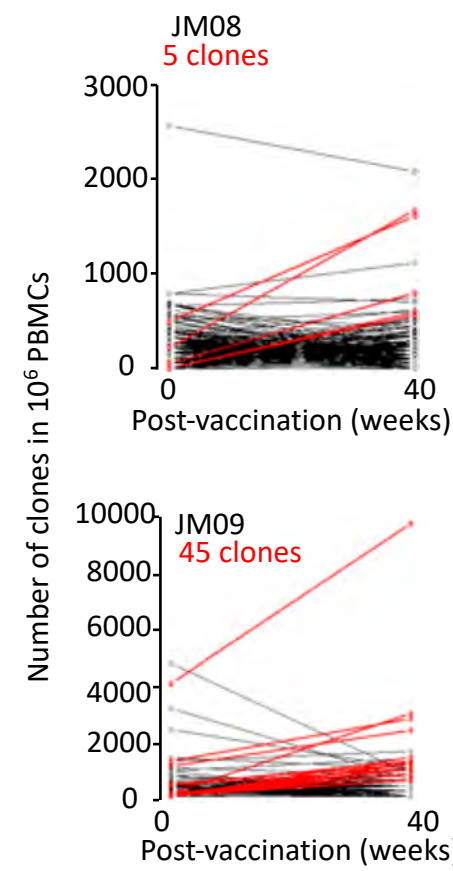
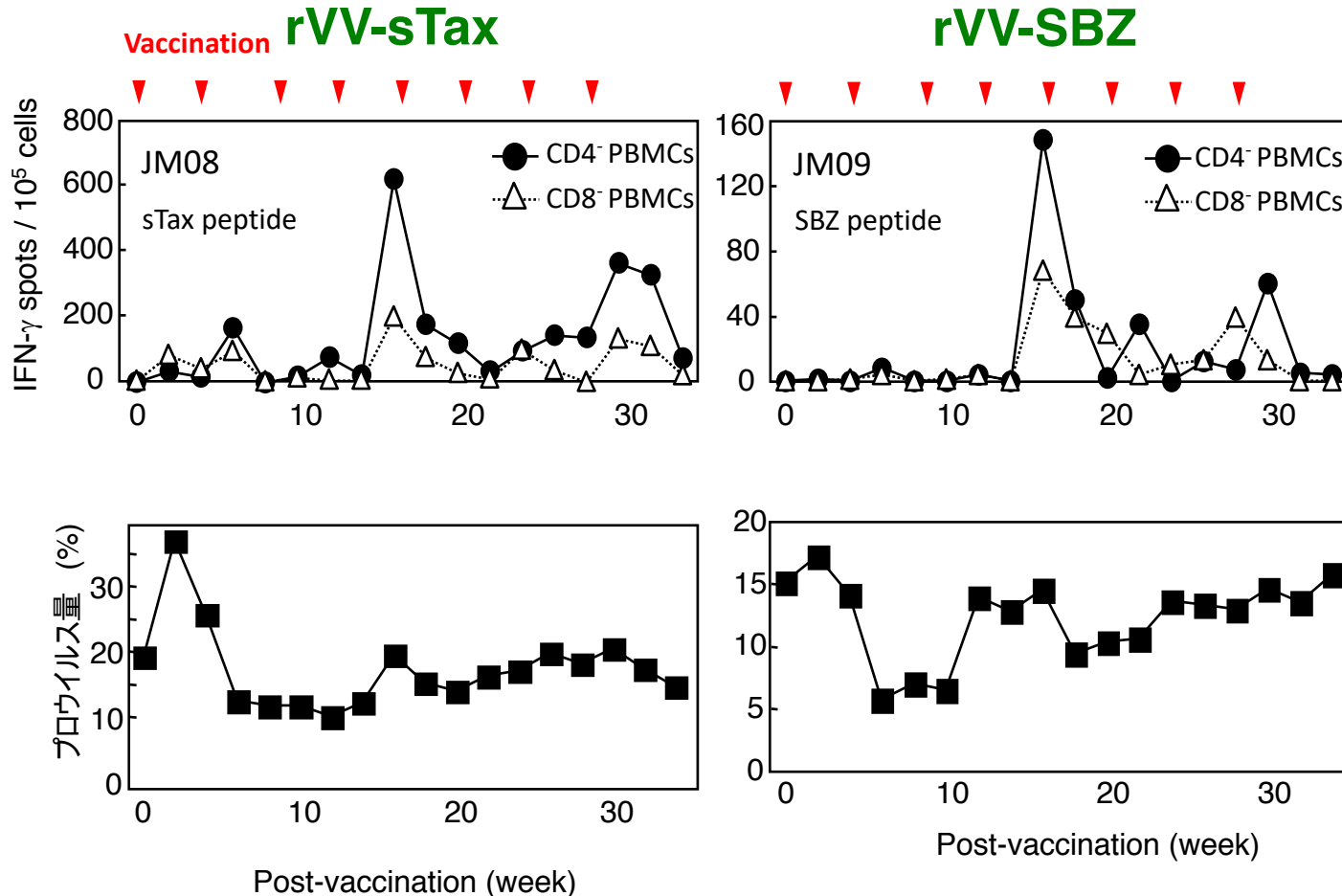
RK13

抗原の発現確認 (WB)

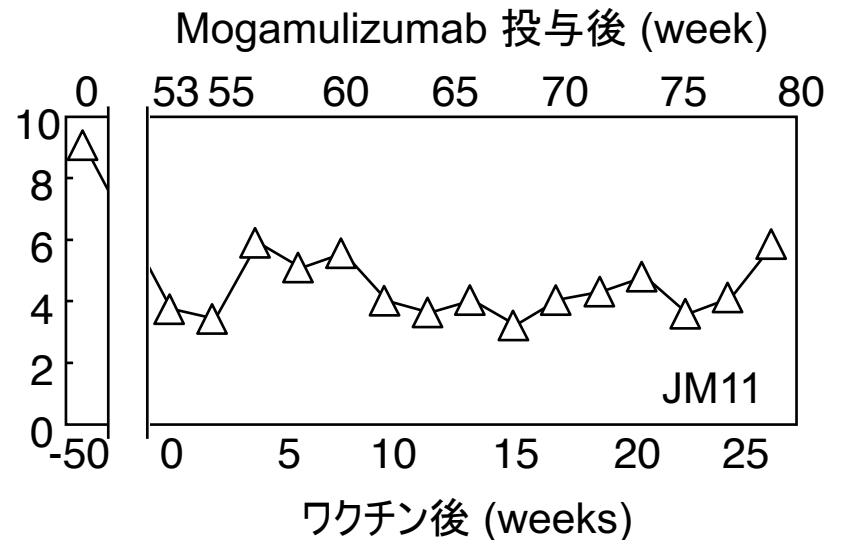
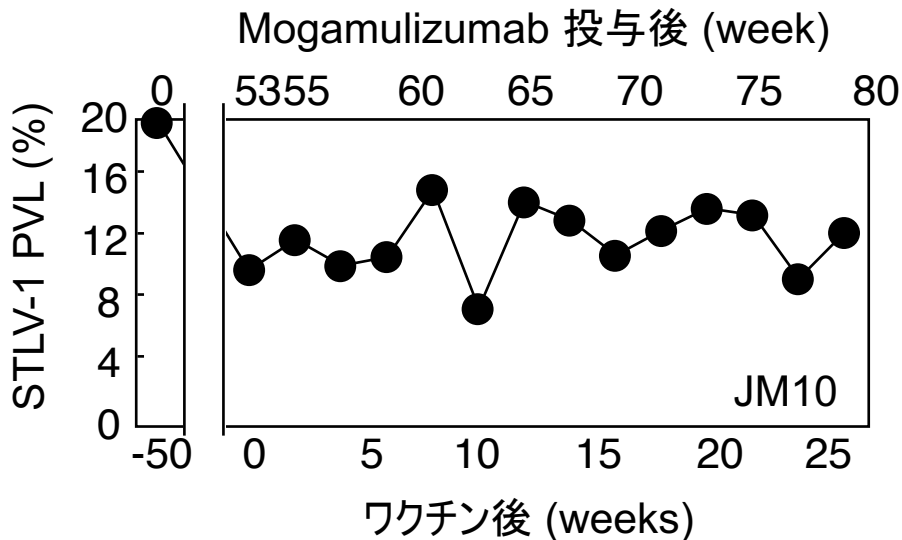
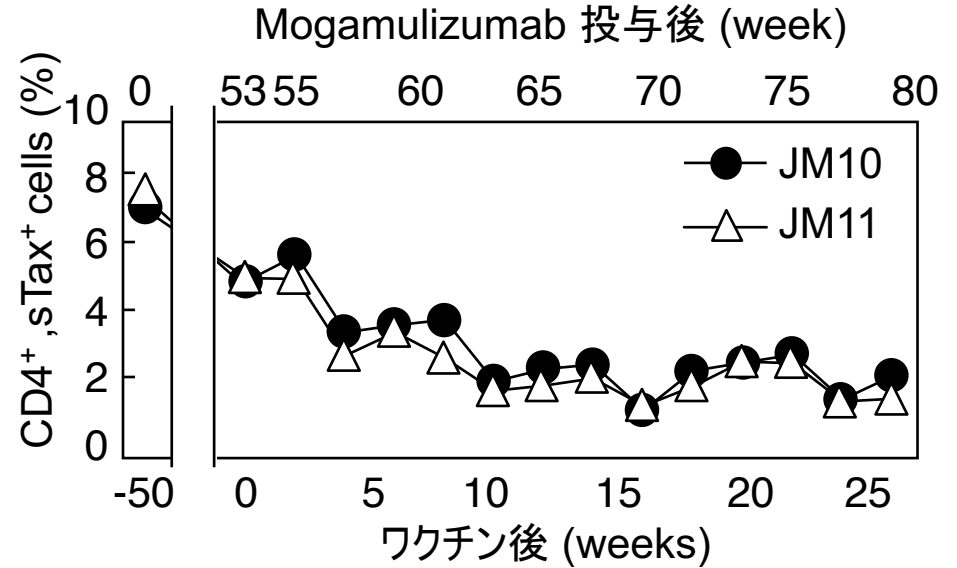
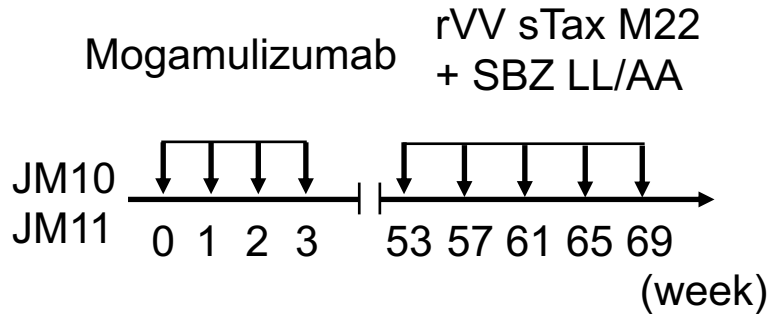




# STLV-1感染ニホンザルへのSTLV-1抗原発現 ワクシニアウイルスの接種



# 抗CCR4抗体投与後のTax+SBZワクチンにて Tax発現細胞がさらに減少する



# 謝辞

京都大学

ウイルス・再生医科学研究所

ウイルス制御

松岡 雅雄

(熊本大学医学部血液膠原病感染症内科兼任)

Guangyong Ma

Mohamed Mahgoub

菅田 謙治

ウイルス感染症モデル

明里 宏文

東京都医学総合研究所

感染制御プロジェクト

小原 道法

久留米大学医学部

病理学

大島 孝一

九州大学

理学研究院

数理生物学

岩見 真吾

小泉 吉輝

北海道大学

先端生命科学研究院

数理生物学

中岡 慎治

国立病院機構九州がんセンター

血液内科・細胞治療科

末廣 陽子