

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
(英語) Research Program on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases

研究開発課題名： (日本語) ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型感染細胞の特性解明に基づいた診断・予防・
治療法開発研究

(英語) Development of new diagnostic, prophylactic, and therapeutic methods
according to the characters of HTLV-1-infected cells

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学・教授・松岡雅雄

所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University, Professor, Masao Matsuoka

実施期間： 平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) HTLV-1 感染細胞の特性解明、治療法の開発

開発課題名： (英語) Analysis of characters of HTLV-1-infected cells and development of
new therapeutic strategies

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学・講師・安永純一郎

所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University, Lecturer, Jun-ichirou Yasunaga

分担研究 (日本語) HTLV-1 感染細胞に対する新規抗体療法の開発研究

開発課題名： (英語) Development of antibody-based therapy against HTLV-1-infected cells

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人宮崎大学・教授・森下和広

所属 役職 氏名： (英語) University of Miyazaki, Prof. Kazuhiro Morishita

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

研究開発代表者、松岡雅雄教授 (京都大学ウイルス・再生医科学研究所) は、HBZ による発現細

胞の形質変化に関する研究を進めており、H28年度はHBZによりHTLV-1感染細胞表面にCCR4が発現誘導される分子機序を解析した。最初にヒトCD4陽性T細胞にHBZを遺伝子導入してCCR4発現を測定したところ、HBZによりCCR4発現が誘導されることが明らかとなった。同様にHBZトランスジェニックマウス(HBZ-Tg)の生体内で増殖しているCD4陽性T細胞はCCR4を強く発現し、CD103も高発現していた。プロモーターアッセイの結果、HBZがGATA3の誘導を介してCCR4のプロモーターを活性化することが明らかとなった。また、HBZ-Tg由来のT細胞は遊走能が更新していた。実際のATL症例における皮膚病変を用いて組織解析を行ったところ、ATLの皮膚浸潤の特徴であるポトリエ微小膿瘍に存在するATL細胞がCCR4及びCD103を高発現し、同時に細胞増殖マーカーであるKi67も陽性であった。CD103リガンドであるE-カドヘリンは皮膚表皮細胞で高発現することから、HBZはCCR4発現を誘導することで感染細胞及びATL細胞の皮膚浸潤を促進し、さらにCD103を介したシグナルを介して増殖を亢進させ、ATL特有の皮膚病変を形成すると考えられた。本結果はCancer Res誌に掲載された(Sugata K, Yasunaga JI, Kinoshita H, Mitobe Y, Furuta R, Mahgoub M, Onishi C, Nakashima K, Ohshima K, Matsuoka M. HTLV-1 Viral Factor HBZ Induces CCR4 to Promote T-cell Migration and Proliferation. Cancer Res, 76:5068-5079, 2016.)。

研究開発分担者、安永純一郎講師(京都大学ウイルス・再生医科学研究所)はHTLV-1感染細胞の多様性に関して解析を行っている。H28年度は各血球分画(CD4陽性Tリンパ球、CD8陽性Tリンパ球、Bリンパ球、単球、好中球)におけるHTLV-1感染を次世代シーケンサーにて解析した。またHBZ-TgとIL-6ノックアウトマウスを交配し、HBZ-Tg/IL6KOマウスを樹立した。

研究開発分担者、森下和広教授(宮崎大学・医学部)はCADM1を標的としてHTLV-1感染細胞に対する新規抗体療法の開発研究を進めた。

英文

Professor Masao Matsuoka (Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University) is studying the changes of phenotypes of T cells by HBZ. In this fiscal year, the molecular mechanism of CCR4 induction by HBZ was analyzed. At first, HBZ gene was transduced to primary human CD4⁺ T cells with lentivirus vector, and it was found that CCR4 expression was induced in HBZ-expressing cells. It was investigated whether the up-regulated CCR4 expression is associated with cell proliferation. In HBZ-transgenic mice, Ki67-expressing CD4⁺ T cells (proliferating CD4⁺ T cells) expressed CCR4 at a higher level than resting CD4⁺ T cells. Furthermore, CD103 expression was up-regulated on the proliferating CD4⁺ T cells. Results of promoter assay showed that HBZ induces GATA3 and activates promoter of CCR4. It was also found that T cells from HBZ-Tg had high capacity of migration. Expression of CCR4, CD103 and Ki67 in skin lesions of ATL patients was evaluated with histopathological analysis, and CCR4⁺CD103⁺ ATL cells were localized in

the Pautrier' s microabscesses, which are typically observed in ATL patients. In addition, those ATL cells also expressed Ki67, indicating that proliferation of those cells was accelerated. CD103 has been known to interact with E-cadherin, which is expressed in epidermal cells. In this study, it was shown that HBZ-induced CCR4 expression affects ATL cell infiltration into skin and ATL cells in epidermis revive integrin signal via CD103-E-cadherin interaction for cell proliferation. This study was published in Cancer Res (Sugata K, Yasunaga JI, Kinoshita H, Mitobe Y, Furuta R, Mahgoub M, Onishi C, Nakashima K, Ohshima K, Matsuoka M. HTLV-1 Viral Factor HBZ Induces CCR4 to Promote T-cell Migration and Proliferation. Cancer Res, 76:5068-5079, 2016.).

Lecturer Jun-ichirou Yasunaga (Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University) is studying variability of HTLV-1-infected cells. In this year, variations of HTLV-1-infected clones in CD4+ T cells, CD8+ T cells, B cells, monocytes, and neutrophils were evaluated by next generation sequencing. In addition, HBZ-Tg/ IL-6 knockout (KO) mice were generated by crossing HBZ-Tg and IL-6 KO mice.

Professor Kazuhiro Morishita (Faculty of Medicine, University of Miyazaki) proceeded the research on the development of novel antibodies targeting HTLV-1-infected cells.

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：京都大学ウイルス・再生医科学研究所・教授・松岡雅雄 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 3 件)

1. Sugata K, Yasunaga JI, Miura M, Akari H, Utsunomiya A, Nosaka K, Watanabe Y, Suzushima H, Koh KR, Nakagawa M, Kohara M, Matsuoka M. Enhancement of anti-STLV-1/HTLV-1 immune responses through multimodal effects of anti-CCR4 antibody. Sci Rep. 2016, 6, 27150.
2. Sugata K, Yasunaga JI, Kinoshita H, Mitobe Y, Furuta R, Mahgoub M, Onishi C, Nakashima K, Ohshima K, Matsuoka M. HTLV-1 Viral Factor HBZ Induces CCR4 to Promote T-cell Migration and Proliferation. Cancer Res. 2016, 76, 5068-5079.
3. Kinoshita H, Yasunaga JI, Shimura K, Miyazato P, Onishi C, Iyoda T, Inaba K, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor Enhances T-Cell Proliferation by Impeding the Suppressive Signaling of Co-inhibitory Receptors. PLoS Pathog. 2017, 13, e1006120.
4. 安永純一郎、松岡雅雄. HTLV-1 プロウイルスマイナス鎖にコードされる HBZ による病原性発現機構. 血液フロンティア. 2016, 26, 513-520.
5. 古田梨愛、松岡雅雄. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の感染特異性. 医学のあゆみ. 2016, 257, 317-318.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Transient expression of human T-cell leukemia virus type 1 Tax is essential for proliferation of leukemic cells, 口頭, Mahgoub, M., Yasunaga, JI., Matsuoka, M. The 23rd East Asia Joint Symposium. Taiwan. October 18-20, 2016, 国外.
2. Hematopoietic Stem Cell Infected with HTLV-1 Functions As a Viral Reservoir In Vivo, ポスター, Yasunaga, JI., Furuta, R., Miura, M., Sugata, K., Saito, A., Akari, H., Shimizu, M., Matsuda, F., Ueno, T., Takenouchi, N., Fujisawa, J., Melamed, A., Bangham, CR., Matsuoka, M. 58th ASH Annual Meeting and Exposition, San Diego, December 3-6, 2016, 国外.
3. Functional Impairment of Co-Inhibitory Receptors Promotes T-Cell Proliferation in HTLV-1 Associated Adult T-Cell Leukemia Cells, ポスター, Kinosada, H., Yasunaga, JI., Shimura, K., Matsuoka, M. 58th ASH Annual Meeting and Exposition, San Diego, December 3-6, 2016, 国外.
4. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の生き残り戦略と病原性, 口頭, 松岡雅雄. 京都血液疾患フォーラム、 京都、2016 年 8 月 5 日, 国内.
5. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の病原性発現機構, 口頭, 松岡雅雄. 第 56 回日本リンパ網内系学会総会、熊本、2016 年 9 月 1-3 日, 国内.
6. ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の生き残り戦略と病原性 移植との関連, 口頭, 松岡雅雄. 第 4 回北海道感染免疫アカデミー、札幌、2016 年 9 月 16 日, 国内.
7. 白血病・リンパ腫とウイルス, 口頭, 松岡雅雄. 第 57 回日本内科学会九州支部生涯教育講演会、熊本、2016 年 11 月 20 日, 国内.
8. HTLV-1 bZIP factor に対する細胞傷害性 T リンパ球の誘導と治療効果, 口頭, 安永純一郎、松岡雅雄. 第 12 回血液学若手研究者勉強会(麒麟塾)、東京都、2016 年 7 月 2 日, 国内.
9. ATL における網羅的遺伝子プロファイルが予後に与える影響の解析, 口頭, 越智陽太郎、片岡圭亮、永田安伸、北中明、安永純一郎、岩永正子、野坂生郷、糸永英弘、今泉芳孝、幣光太郎、宮崎泰司、高折晃史、下田和哉、松岡雅雄、渡邊俊樹、小川誠司. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26-29 日, 国内.
10. ATL および T 細胞リンパ腫における遺伝子変異プロファイルの解析, ポスター, 綿谷陽作、佐藤康晴、西田賢司、三好寛明、永田安伸、北中明、白石友一、高折晃史、宮野悟、松岡雅雄、渡邊俊樹、下田和哉、大島孝一、吉野正、小川誠司、片岡圭亮. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26-29 日, 国内.
11. ATL 細胞における Tax の一過性発現とその意義, 口頭, 安永純一郎、Mohamed Mohamed、松岡雅雄. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26-29 日, 国内.
12. 血液系細胞における HTLV-1 感染とその意義, 口頭, 古田梨愛、安永純一郎、三浦未知、菅田謙治、齊藤暁、明里宏文、上野孝治、竹之内徳博、藤澤順一、清水正和、松田文彦、Melamed Anat、Charles Bangham、松岡雅雄. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26-29 日, 国内.
13. HBZ-Tg マウスモデルにおける ATL 癌幹細胞の発生機序解明を目指した分子基盤の解明とその機能解析, ポスター, 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雅雄、濱口功. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26-29 日, 国内.
14. HTLV-1 bZIP factor は共抑制分子の機能を阻害し T 細胞の増殖を促進する, ポスター, 紀ノ定明香、安永純一郎、松岡雅雄. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月 26-29 日, 国内.

内.

15. HTLV-1 bZIP factor promotes T-cell proliferation by impairing the suppressive function of co-inhibitory receptors, 口頭, Kinoshita, H., Yasunaga, JI., Shimura, K., and Matsuoka, M. 第15回あわじしま感染症・免疫フォーラム、兵庫県、2016年9月6-9日、国内.
16. Transient expression of HTLV-1 transactivator Tax is essential for survival of adult T-cell leukemic cells, ポスター, Mahgoub, M., Yasunaga, JI., Furuta, R., and Matsuoka, M. 第15回あわじしま感染症・免疫フォーラム、兵庫県、2016年9月6-9日、国内.
17. Prognostic Relevance of Integrated Molecular Profiling in Adult T-cell Leukemia / lymphoma, 口頭, Ochi, Y., Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Yasunaga, JI., Iwanaga, M., Shiraishi, Y., Chiba, K., Sato-Otsubo, A., Sanada, M., Tanaka, H., Suzuki, H., Sato, Y., Shiozawa, Y., Yoshizato, T., Yoshida, K., Nosaka, K., Hishizawa, M., Imaizumi, Y., Hidaka, T., Nakamaki, T., Miyawaki, S., Tobinai, K., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Shibata, T., Miyano, S., Shimoda, K., Matsuoka, M., Watanabe, T., and Ogawa, S. □第75回日本癌学会学術総会、横浜市、2016年10月6-8日、国内.
18. Leukemogenesis by human T-cell Leukemia virus type 1 (HTLV-1), 口頭, Matsuoka, M., and Yasunaga, JI. 第75回日本癌学会学術総会、横浜市、2016年10月6-8日、国内.
19. HBZ promotes proliferation of CD4+ T cells by interfering the suppressive function of co-inhibitory molecules, 口頭, Kinoshita, H., Yasunaga, JI., and Matsuoka, M. 第75回日本癌学会学術総会、横浜市、2016年10月6-8日、国内.
20. Transient expression episodes of HTLV-1 Tax are essential for survival of adult T-cell leukemic cells, 口頭, Mahgoub, M., Yasunaga, JI., and Matsuoka, M. 第75回日本癌学会学術総会、横浜市、2016年10月6-8日、国内.
21. Integrated genetic analysis of adult T-cell leukemia / lymphoma, 口頭, Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Shiraishi, Y., Shimamura, T., Yasunaga, JI., Totoki, Y., Watanabe, T., Shibata, T., Matsuoka, M., Miyano, S., Shimoda, K., and Ogawa, S. □ 第75回日本癌学会学術総会、横浜市、2016年10月6-8日、国内.
22. Prognostic relevance of integrated molecular profiling in adult T-cell leukemia / lymphoma, 口頭, Ochi, Y., Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Yasunaga, JI., Iwanaga, M., Shiraishi, Y., Sanada, M., Yoshizato, T., Yoshida, K., Nosaka, K., Hishizawa, M., Itonaga, H., Imaizumi, Y., Munakata, W., Shide, K., Kubuki, Y., Hidaka, T., Kameda, T., Nakamaki, T., Ishiyama, K., Miyawaki, S., Tobinai, K., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Shibata, T., Miyano, S., Matsuoka, M., Shimoda, K., Watanabe, T., and Ogawa, S. 第78回日本血液学会学術集会、横浜市、2016年10月13-15日、国内.
23. Comparative mutational profiling of ATL and other PTCLs, 口頭, Watatani, Y., Sato, Y., Nishida, K., Miyoshi, H., Nagata, Y., Kitanaka, A., Shide, K., Shiraishi, Y., Chiba, K., Tanaka, H., Yoshizato, T., Yoshida, K., Sanada, M., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Shibata, T., Miyano, S., Matsuoka, M., Watanabe, T., Shimoda, K., Ohshima, K., Yoshino, T., Ogawa, S., and Kataoka, K. 第78回日本血液学会学術集会、横浜市、2016年10月13-15日、国内.
24. HTLV-1 infects multi-lineage hematopoietic cells in vivo, 口頭, Furuta, R., Yasunaga, JI., Miura, M., Saito, A., Akari, H., Ueno, T., Takenouti, N., Fujisawa, J., Shimizu, M., Matsuda, F., Melamed, A., Bangham, C., and Matsuoka, M. 第78回日本血液学会学術集会、横浜市、2016年10月13-15日、国内.

25. Transient expression of HTLV-1 Tax is important in latency and survival of HTLV-1-infected cells, 口頭, Yasunaga, JI., Mahgoub, M., Shimura, K., and Matsuoka, M. 第 64 回 日本ウイルス学会学術集会、札幌市、2016 年 10 月 23-25 日, 国内.
26. HBZ promotes proliferation of CD4+T cells by impairing the suppressive signal from co-inhibitory molecules , 口頭, Kinosada, H., Yasunaga, JI. and Matsuoka, M. 第 64 回 日本ウイルス学会学術集会、札幌市、2016 年 10 月 23-25 日, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し