

■2020年度 研究ブランディング事業年次計画進捗報告書

講座・部門名：微生物学講座

研究代表者：藤澤順一

2020年度実施項目

1. 研究目標 (提出計画書に基づき記載)

研究項目 1: HTLV-1 感染ヒト化マウスを用いて抗腫瘍薬や HTLV-1 ワクチンに対する免疫調整剤の相乗効果を免疫組織病理学的に検証する。

研究項目 2: HTLV-1 急性感染系において感染細胞の腫瘍性増殖抑制効果が示された HTLV-1 ワクチンの、慢性感染モデルにおける効果を検討する。

2. 2020年度研究進捗・成果 (論文、学会発表を含む)

研究項目 1: ATL 患者末梢血では、白血病の進行にともなって感染 T 細胞の表面抗原の発現が CADM1(-)CD7(+)[P 画分] から CADM1(+)/CD7(+)[D 画分] を経て CADM1(+)/CD7(-)[N 画分] と変化することから、HTLV-1 感染ヒト化マウスにおける感染 T リンパ球を解析したところ、ヒト ATL 個体と同様に、P→D→N と経時変化することが示された。さらに、網羅的 RNA 発現解析の結果から、発現が上昇あるいは抑制される遺伝子の数と種類においても、経時的にヒト ATL 細胞における遺伝子発現に類似していくことが明らかとなり、HTLV-1 感染ヒト化マウスが ATL 発症過程を解析する上で有用なモデルとなることが示された。また、HTLV-1 感染ヒト化マウス末梢血および脾臓において、感染 CD4T 細胞の腫瘍性増殖に対応するかたちで CD8T 細胞も増加し、かつ HTLV-1 感染を示唆する CADM1 陽性率も高くなることから、HTLV-1 の感染を解析したところ、ほとんどの細胞が HTLV-1 に感染しており、Ki67 も陽性であることが明らかとなった。同感染 CD8T 細胞は転写因子 T-bet および細胞障害性酵素 GranzymeB の遺伝子を強発現していることから、細胞障害性 T 細胞(CTL)の活性を有していることが示されたが、感染細胞の主要な標的である Tax ペプチドに対する T 細胞受容体(テトラマー)は持たなかった。このことから、CD8T 細胞が HTLV-1 に感染することにより、抗原非特異な CTL の活性化と増殖が進行することで、感染個体に免疫抑制状態が誘導される可能性が示唆された。

研究項目 2: HTLV-1 感染ヒト化マウスは感染数ヶ月で白血病死することから、慢性感染ヒト化マウスを作成するためにはウイルス発現が低い感染細胞株を作成する必要があると考え、HTLV-1 プロウイルスを一本しか持たない感染 Jurkat T 細胞株の樹立を試みた。単一プロウイルスを持つ細胞株は全てウイルスの発現を欠いていた。プロウイルスを二本以上持ち、ウイルス発現がある感染 Jurkat T 細胞株における HTLV-1 遺伝子の発現を解析したところ、ともに転写調節因子である Tax および HBZ の二つの遺伝子産物が、相互に抑制的に機能していることが明らかとなり、これらの発現バランスが個体

内での感染形態を決定している可能性が示唆された。さらに、抗原刺激および細胞接着刺激が Tax 遺伝子の発現を上昇させることが示され、これらのシグナル伝達系を介してウイルス発現の調節が可能になると考えられた。

論文、学会発表ともに該当なし

3. 2020 年度ブランディング目標（提出計画書に基づき記載）

AMED「HTLV-1 感染・発症予防ワクチンの開発に関する研究」班において、HTLV-1 ワクチンに対する免疫調整剤のがん微小環境レベルでの相乗効果を報告する。

AMED「HTLV-1 感染による DNA 修復障害と発癌過程の解明と新規治療開発」班において、HTLV-1 感染ヒト化マウスに対する DNA 修復障害薬の投与効果を報告する。

AMED「HTLV-1 関連疾患の発症リスク、進展メカニズムに関するオミックス統合解析と発症予防に資する基盤的研究」班において、HTLV-1 感染ヒト化マウスを用いた感染細胞のクローン進化過程における経時的なゲノム解析を報告する。

4. 2020 年度ブランディング活動進捗・成果（メディア、その他）

HTLV-1 感染ヒト化マウスにおける感染 T 細胞の遺伝子発現およびエピゲノム変異の経時的变化を解析し、その成果を HTLV-1 関連疾患研究班合同研究発表会にて報告した。

5. 自己評価（達成度、改善点など）

ペプチドワクチン投与による CTL の活性化を定量するため、*in vitro* での抗原刺激後の γ -インターフェロン活性の測定を試みているが、ワクチン投与直後では有意な活性を検出できず、また、ウイルス感染後では感染細胞自体からの γ -インターフェロンの産生により測定が困難となるため、定量的な CTL 活性化の解析が遅延している。感染前の CTL 活性が低い原因のひとつに、ヒト化マウスにおける樹状細胞等、抗原提示細胞の数が少ない事が考えられるため、GM-CSF 発現ベクターをペプチドワクチンあるいは Tax DNA ワクチンと共に接種する等、抗原提示細胞の分化・増殖の活性化を試みている。

一方、熊本大学および東京大学医科学研究所の研究グループとの AMED 研究での共同研究では、HTLV-1 感染ヒト化マウスにおける感染 T 細胞の遺伝子発現およびゲノム修飾の経時的解析が、ATL 発症過程を解明する上で非常に有用な情報を提供することが明らかとなってきたことから、現在、感染クロンの選択過程におけるプロウイルス挿入部位の影響およびゲノムあるいはヒストンメチル化の関与を中心に解析を進めている。

さらに、現在、製薬会社において開発中のゲノム修飾を標的とした抗がん剤の HTLV-1 感染過程および感染細胞の腫瘍増殖への影響をヒト化マウスを用いて検討する計画である。