

<p><b>サブテーマ 1 :ウイルス発がんの機序解明と予防・治療法の創出</b>  <b>小テーマ 1-2:ATL 発症機構の解明と発症前診断及び予防・治療法の開発</b>  <b>a) コホート研究を用いた ATL 発症危険度予測方法の提案</b></p>
<p><b>サブテーマリーダー</b> 鹿児島大学医歯学総合研究科：教授 坪内博仁  <b>研究従事者</b> 宮崎大学医学部：教授 岡山昭彦、臨床検査技師長 梅木一美、主任臨床検査技師 山本成郎、      助教 高城一郎、医員 梅北邦彦、助教 野村創      宮崎県産業支援財団：研究員 高濱由香、研究員 小林樹、技術スタッフ 釈迦野忍</p>
<p><b>研究の概要、新規性及び目標</b></p> <p><b>①研究の概要</b>      ATL 発症のリスクファクターを探索する目的で、コホート研究によって集積された検体をベースに、HTLV-1 キャリアの宿主因子についてのデータ解析およびキャリアのウイルス学的な特徴を明らかにし、ATL 発症メカニズムを明らかにするとともに、今後 ATL 発症予防介入を必要とするキャリアの同定を試みる。</p> <p><b>②研究の独自性・新規性</b>      HTLV-1 キャリアからの ATL 生涯発症率は約 5%であり、どのキャリアが ATL 発症に至るのかは明確でない。この発症危険因子を同定することは白血病のメカニズムを解明するとともに、将来における発症予防介入の対象を絞り込む上で重要である。しかしながら ATL の発症には 50 年以上の長い年月を要するため発症危険因子の同定は困難であった。我々は 1984 年から 2000 年まで 17 年間にわたり宮崎県南部在住の HTLV-1 キャリアを 25% 近くおおよそ 2000 名についてのフォローアップを行い、検体、キャリア情報、検査データを集積したデータベースを有している（宮崎コホート研究）。このデータベースに基づいて、HTLV-1 感染症について宿主背景因子、ウイルス因子、腫瘍因子、免疫学的因子の各側面から評価を行い、ATL 発症に関連した因子のスコア化を試みる。このスコアリングシステムを用いることにより、発症危険度に応じた HTLV-1 キャリアのフォローアップを可能にし、将来の発症阻止研究につなげる。</p> <p><b>③研究の目標</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・フェーズⅠ：約 2,000 名のコホート参加者情報の匿名化されたデータベースの作製を行う。あわせて検体として、参加者由来の血清約 10,000 検体および末梢血液単核細胞およびそれらから抽出された核酸検体を同様にデータベース化し、ウイルス解析、プロテオーム解析等に供することを可能にする。ウイルス学的解析方法として、キャリアの感染細胞数をリアルタイム PCR 法により測定し、また発症に重要な感染細胞クローナリティを解析するための ILPCR 法、プロウイルスの組み込み部位を同定する方法を確立する。上記方法を用いて実際のキャリア 500 人分についてウイルス学的解析を行う。血清についてはプロテオーム解析の手法を確立し、HTLV-1 キャリアに特徴的な血清蛋白質パターンを同定する。</li> <li>・フェーズⅡ：フェーズⅠで検討したキャリア背景因子と感染細胞数やクローナリティなどのウイルス学的因子に加え、ATL 特異的遺伝子および蛋白質の同定研究から明らかとなった腫瘍因子、および制御性 T 細胞マーカーなどの免疫学的因子もあわせて、実際に ATL を発症した者を含む 500 名のキャリアの経時的検体で検討する。これにより、ATL 発症に関連した因子のスコア化を試みる。</li> <li>・フェーズⅢ：ATL 発症に関連した因子のスコアリングシステムを用いることにより、発症危険度に応じた HTLV-1 キャリアのフォローアップを可能にする。このために、南九州で同様の研究を行っている大学や病院を含めた共同研究を構築し、また全国的に行われているキャリアフォローアップへの提案を行っていく。最終的には、発症高危険群に対する介入が可能な体制に寄与できるシステムを確立する。</li> </ul>
<p><b>研究の進め方及び進捗状況</b></p> <p>まずフェーズ1において約 2,000 名のコホート参加者情報のデータベース化を試み、ハーバード大学疫学教室スタッフとの協力もあって、コンピュータ上のデータベース、家系図解析法を作成できた。さらに 2,000 名の参加者由来の血清約 10,000 検体および末梢血液単核細胞、および抽出核酸検体のレポジトリ作成とデータベースとの関連付けを試み、終了した。アッセイ系としてはキャリア感染細胞数のリアルタイム PCR 法を用いた測定方法、感染細胞クローナリティを解析するための ILPCR 法、プロウイルスの組み込み部位を同定する方法を確立した。さらに T 細胞クローナリティを解析する方法や欠損ウイルス解析方法についても検討した。フェーズ2においては、これらの方法を用いて、キャリア約 500 人分について感染細胞数の測定を終了し、その一部については経時変化および感染経路との関連についても検討した。腫瘍因子関連ではプロテオーム解析による HTLV-1 キャリア関連血清蛋白質についての検討や森下研究により ATL との関連が明らかとなった TSLC1(CADMI)についての検討も行った。免疫学的因子として、制御性 T 細胞遺伝子発現測定法についても確立を試みたが、フェーズ2終了時までには終了することはできなかった。</p>
<p><b>主な成果</b>  <b>具体的な成果内容：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) キャリア背景因子：データベース、家系図解析法を用いることにより、コホートに含まれるキャリアの感染経路を同定した。その結果を感染細胞数と関連付けることにより、母児感染によるキャリアは配偶者間感染によるキャリアよりも有意に感染細胞数が多いことが明らかとなった。また男性には女性に比して感染細胞数の多いキャリアが有意に多く存在することが示された。</li> <li>2) ウイルス因子：キャリア約 500 名における感染細胞数の解析から、感染細胞数は 5%以上感染しているキャリアからその 100 分の 1 以下しか感染細胞の存在しないキャリアまで多様であることが示された。高感染細胞数キャリアではクローナリティ解析により、メジャークローンを有する個体が多かった。さらに 200 名の</li> </ol>

キャリアについての欠損ウイルス感染細胞の解析から、感染細胞数が20%以上の特に高感染細胞数キャリアのうち4名中3名に欠損ウイルス感染細胞が主として検出され、しかも10年程度の観察で経時的に選択的に増殖していることが判明し、ATL危険因子としての可能性が示された。

- 3) 腫瘍因子：質量分析法を用いたプロテオミクス解析により、ATL患者、HTLV-1キャリア、非感染者において異なるパターンを示す血清マーカーが発見された。さらに高感染細胞数キャリアと低感染細胞数キャリアでの比較において、前者に特異的なマーカーも検出することができ、血清を用いた簡便な高感染細胞数キャリアの判別法開発の可能性が示された。また森下研究員が明らかにしたがん遺伝子産物TSLC1(CADM1)の可溶性成分が一部のキャリア血清から検出されることも明らかとなった。
- 4) 免疫学的因子：以前の研究よりHTLV-1キャリアでは細胞性免疫の異常が判明しており、近年制御性T細胞機能との関連が言われていたため、遺伝子発現測定系を用いた方法論の検討を行ったが、結論を導くにはいたらなかった。しかしその研究から派生的にキャリア末梢血液細胞において水酸化酵素ファミリーのひとつであるCYP1B1の高発現があることが判明した。
- 5) 上記であきらかとなったHTLV-1感染者背景因子、ウイルス因子、腫瘍因子、免疫学的因子に文献的に報告されている因子を加味したスコアリングシステムのプロトタイプを作成した。

特許件数： 1                      論文数： 12                      口頭発表件数： 21

## 研究成果に関する評価

### 1. 国内外における水準との対比

HTLV-1感染からATL発症に関連する研究は国内外で行われているが、コホート研究をベースにした研究は数えるほどしかなく17年間に及ぶ長期にわたって行われ、核酸検体も保存されて、研究に活用できるものは本研究の他にない。またこれらをデータベース化し、HTLV-1感染者背景因子、ウイルス因子、腫瘍因子、免疫学的因子に分類して意義を検討した研究も類をみないものである。

### 2. 実用化に向けた波及効果

ATL発症を阻止する薬剤や食品が開発、実用化された場合、対象となるHTLV-1キャリアを選択する必要がある。そのためには本研究により発症危険群を選別することは重要であり、判別キットを作成できれば実用化に向けての波及効果は大きい。さらにATL危険因子をスコアにより明確化することにより、これを有しないキャリアにとっては発病の恐怖を軽減できる点でも有意義と思われる。

## 今後の課題と研究開発方針について

これまでの研究により、HTLV-1感染者背景因子、ウイルス因子、腫瘍因子、免疫学的因子としてATL発症危険因子を整理することができた。今後これらの因子について仮の重み付けを行いスコアリングシステムの完成をめざす。南九州でATLの研究を行っている大学や病院を含めた共同研究が今後行われることになっており、また全国的に行われているキャリアフォローアップ(JSPFAD)が行われているため、スコアリングシステムが実際に応用可能であるかの検証をこれらの組織との共同研究としておこなっていく。最終的には、発症高危険群に対する介入が可能な体制に寄与できるシステムを確立する。

	JST負担分(千円)							地域負担分(千円)							合計
	15年度	16年度	17年度	18年度	19年度	20年度	小計	15年度	16年度	17年度	18年度	19年度	20年度	小計	
人件費	0	762	2,003	4,625	5,179	924	13,493	0	0	0	0	0	0	0	13,493
設備費	0	1,605	0	0	0	0	1,605	0	0	0	0	0	0	0	1,605
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	400	3,284	4,000	4,988	2,390	700	15,762	0	0	0	0	0	0	0	15,762
旅費	0	0	0	66	183	0	249	0	0	0	0	0	0	0	249
その他	27	46	32	354	405	107	971	0	0	0	0	0	0	0	971
小計	427	5,697	6,035	10,033	8,157	1,731	32,080	0	0	0	0	0	0	0	32,080

代表的な設備名と仕様〔既存(事業開始前)の設備含む〕

JST負担による設備：

地域負担による設備：