

<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>c) ATL 発症関連因子を用いた治療法開発への応用</b></p>
<p><b>サブテームリーダー</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 森下和広、医員 日高智徳、講師 山下清、助教 中畑新吾、助教 山川哲生、助教 西片一朗、講師 久富木庸子  宮崎県産業支援財団：技術スタッフ 濱崎誠  アドテック；部長 小林行治、研究員 福田健太  京都府立医科大学：教授 谷脇雅史  イムナス：研究員 高松尚文、研究員 真鍋香澄</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>  1b で行う SKY 染色体分析、SNP アレイ CGH (ゲノム解析)、遺伝子の網羅的発現解析 (トランスクリプトーム解析)、及び蛋白質の網羅的発現解析 (プロテオーム解析) により同定されたゲノム、遺伝子、たんぱく質異常を基礎として、これらの遺伝子群に対する分子生物学的手法、<i>in vitro</i> 実験、<i>in vivo</i> マウス実験等を用いて詳細に機能解析し、それに基づく ATL の新規治療法の開発へつなげる。</p> <p><b>②研究の独自性・新規性</b>  ATL の発症機構に関して HTLV-1 ウイルス感染症の見地から、ウイルス発癌の研究はこの 20 年間かなり行われてきたが有効な治療法の開発は全く行われなかった。そこで ATL の発症や病態に関して、ゲノム解析に基づき新たに発見した遺伝子異常を解析することで新たな知見が得られ、さらに新規治療法開発につながる可能性が高く、独自性・新規性に富む研究である。また、ATL は南九州に特有の白血病であることを考えると、地域的な側面からも独自性が認められる。</p> <p><b>③研究の目標</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・フェーズⅠ：染色体解析では、ATL 特異的な染色体異常を同定し、その異常領域に存在する遺伝子を検索することで、ATL の発症に関わる遺伝子を探索する。トランスクリプトーム解析とプロテオーム解析では、急性型 ATL において発現の増減が見られる遺伝子・蛋白質を同定し、ATL のマーカー候補とする。</li> <li>・フェーズⅡ：ATL の発症に係わる遺伝子群に対して、その遺伝子発現の検討や <i>in vitro</i>、<i>in vivo</i> での ATL マウスモデルを用いた機能解析を行い、その機能性に対して阻止するための基礎実験を行い、フェーズⅢでの新規治療法開発につなげる</li> <li>・フェーズⅢ：フェーズⅡで開発してきた治療法について、<i>in vitro</i> さらには <i>in vivo</i> 動物実験モデルを用いた有効性を確認し、企業との連携により事業化を目指す。</li> </ul>
<p><b>研究の進め方及び進捗状況</b></p> <p>1b で検討し同定した遺伝子群を用いて、ATL 発症機構を検討し、その発症機構を基礎とした治療法を開発する。統合的ゲノム解析により同定した 3 遺伝子のうち、2 遺伝子に関しては <i>in vitro</i>、<i>in vivo</i> において白血病発症に係わる機能を同定できた。TCF8 に関しては TCF8 遺伝子発現に係わる機構異常を標的に、GeneX は増殖促進に係わる PI3K 情報伝達系を標的とした治療法が考えられ、フェーズⅢにつなげる。またトランスクリプトーム解析により同定した TSLC1 も <i>in vitro</i>、<i>in vivo</i> 実験により白血病発症に係わることを同定し、細胞表面抗原であることから分子標的療法として抗体療法を考え、開発中である。このように治療法の開発の基礎研究として、3 方法を見いだしており、研究の進捗としてはほぼ目的を達成してはいるが、具体的な進行中の治療法開発は一件だけであり、さらにこれからの治療法の確立につなげていきたい。</p>
<p><b>主な成果</b></p> <p><b>具体的な成果内容：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 急性型 ATL 患者のゲノム解析より同定した染色体転座点集中領域 10p11 より TCF8 遺伝子は、ATL 細胞において有意に発現低下しており、TCF8 遺伝子の強制発現により細胞増殖抑制能を示した。また TCF8 遺伝子の発現低下は TGFbeta 情報伝達系の阻害に繋がっており、SMAD7 の高発現と TCF8 遺伝子低発現の二つの現象が重要であった。SMAD7 の発現亢進は NFkB 活性亢進から派生しており、NFkB 阻害剤により SMAD7 の転写抑制、並びに TGFbeta による増殖抑制が見られた。TCF8 欠損マウスの解析により、CD4 陽性 T リンパ腫が 80% のマウスで見られ、臓器浸潤性が高いことから ATL の病態に類似していることがわかった。TCF8 の転写抑制にはプロモーターメチル化が関与しており、DNA メチル化阻害剤である Hydralazine の投与により ATL 細胞は TCF8 遺伝子の再誘導と、細胞増殖抑制を認めた。SMAD7 の高発現には NFkB 活性亢進が関係しており、NFkB 阻害剤による治療効果が見られた。</li> <li>3) TSLC1 に関して、ATL における TSLC1 の強制発現は、<i>in vitro</i> 実験により細胞接着能の亢進、<i>in vivo</i> マウスへの移植実験により、生存期間の短縮、腫瘍塊の形成能の亢進、肝臓、肺などへの臓器浸潤性の亢進が見られた。TSLC1 TG マウスは生後 1 年半から 2 年後に CD4 陽性 T リンパ腫を約半数の例で発症し、臓器浸潤と皮膚炎を伴うことがわかった。TSLC1 に対する抗体療法の開発を進めており、高 ADCC 活性を示す抗体を 3 種類同定した。</li> <li>4) 14q32 領域より BCL11B 遺伝子を同定した。BCL11B 遺伝子は二つの mRNA(a と b) を発現しており、その発現様式の変化が白血病化に繋がる結果を <i>in vitro</i> 実験により得ることができた。</li> </ol>
<p><b>特許件数： 1</b>                      <b>論文数： 3</b>                      <b>口頭発表件数：20</b></p>

## 研究成果に関する評価

### 1 国内外における水準との対比

ATLの発症に係わる4因子を同定し、うち3因子については *in vivo* マウス実験によりがん化に係わることが示唆される結果を得た。このことからATL発症にはこれらの因子が積み重なって発症していることが考えられ、ATLの多段階発癌の一端が明らかになった。この研究は国内外でも行われておらず、独創性が高い研究となっている。

### 2 実用化に向けた波及効果

TSLC1に関しては抗体研究所で作成した抗体を用いてイムナス社と共同でATLの抗体療法の開発に取り組んでいる。現在のところ化学療法や骨髄移植による治療法の効果が余り見られないことから、TSLC1抗体療法の開発は地元医療の改善に多大な貢献をもたらす可能性を持つ。

TCF8/SMAD7 遺伝子異常に対しては、DNAメチル化阻害剤の使用、NFκB阻害剤の使用により治療としての可能性が出てきているので、*in vivo* マウス系の実験等により効果確認、並びに治験が行われるよう研究を進めていきたい。

GeneXは白血病だけでなく多くの固形癌においてもATLと同様な異常が報告されていることから、この遺伝子異常を標的とした治療法を確立できれば、癌の治療法としては大変大きなインパクトを持つ。この研究には全力を挙げて取り組みたい。

## 残された課題と対応方針について

ATLはHTLV-1感染以降、多くの発症因子が複雑に関係して発症している難治性白血病である。従って治療には、従来の抗がん剤を用いた治療法ではなく、それぞれの発症因子に対する分子標的療法がその打開策となる。従って今回発症に係わる可能性が高い4遺伝子に対してそれぞれの発症機構に対峙する治療法を開発すべきである。

TSLC1は細胞表面抗原であり、抗体治療法が一番開発しやすい方法である。現在開発した抗体群の抗腫瘍効果は主としてADCC活性であり、*in vivo* 効果の増強のため抗体の糖鎖修飾の変更が必要で現在その変更を行っている。

TCF8は転写因子でありその機能からはTGFβ情報伝達系に係わる。この場合の治療法としては、白血病細胞内での発現異常に係わるDNAメチル化阻害を考え、ヒドララジンは既知の薬剤であり、*in vivo* での有効が確認されれば治療法として確立しやすい。またNFκB阻害剤は世界的にも開発途上の薬品であり、有効かつ副作用の少ない薬品の開発が待たれる。

BCL11Bは、転写因子として白血病発症に係わるが、これまでの研究ではその重要な機能が余り明らかになっていない。しかしその他の白血病においても重要な因子であり、その機能を明らかにし、特異的治療法を開発することはこれからの難治性白血病の治療法を開発する上で、必須の課題である。

	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	0	0	2,288	3,156	1,426	6,870	0	0	0	0	0	0	0	6,870
設備費	0	0	0	533	0	0	533	0	0	0	0	0	0	0	533
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	200	1,000	6,000	1,000	1,964	2,800	12,964	0	0	0	0	0	0	0	12,964
旅費	0	0	0	32	114	0	146	0	0	0	0	0	0	0	146
その他	0	0	0	237	306	132	675	0	0	0	0	0	0	0	675
小計	200	1,000	6,000	4,090	5,540	4,358	21,188	0	0	0	0	0	0	0	21,188

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: DNAマイクロアレイ(Affymetrix Japan, GeneChip Scanner 3000)、DNAシーケンサー(Beckman Coulter CEQ-8000)、ナノLCシステム(KYA, DiNaS)、蛍光ディフレンシャル解析装置(Perkin Elmer, ProXPRESS)、小型超遠心分離器(Beckman Coulter, Optima TLX)

地域負担による設備: 蛍光顕微鏡