

第19回日本エイズ学会シンポジウム記録

HIV-1 と HTLV-I : ベンチからベッドサイドへ

オーガナイザー：松岡 雅雄（京都大学ウイルス研究所）
満屋 裕明（熊本大学医学薬学研究部血液内科）

日本エイズ学会誌 8 : 78-85, 2006

動物におけるレトロウイルス研究は、がん研究に大きな貢献をなしたが、ヒトにおけるレトロウイルスの存在は長い間不明であった。ヒトレトロウイルス研究の嚆矢は1980年にT細胞性リンパ腫に見出されたヒトT細胞白血病ウイルスI型 (human T-cell leukemia virus type I : HTLV-I) である。その発見に引き続きサンフランシスコで後天性免疫不全症候群 (エイズ) が報告されたのは歴史の必然であったのかもしれない。HTLV-I 研究でヒトレトロウイルスに多くの知識・経験を有するようになった研究者・臨床医達がエイズの原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス (HIV) を追いつめ、同定し次々とその性質を明らかにしていった。その成果は極めて短期間に診断・治療薬開発へと結実し先進国ではコントロール可能な慢性疾患と言われるまでになっている。

これまで HTLV-I と HIV の研究は多くの面で示唆を与え合い今日に至っている。本シンポジウムでは HTLV-I と HIV を比較し、その研究の軌跡と成果を検証することを目的とした。本シンポジウムは、これからのヒトレトロウイルス研究の方向性を考える上でも有益な示唆を与えたと考えている。

新規の CCR5 阻害剤 aplaviroc の作用機序解明と構造学的解析

前田 賢次, 中田 浩智, 緒方 宏美,
東 條 靖, 満屋 裕明
熊本大学医学薬学研究部血液内科・
膠原病内科感染免疫診療部

1. はじめに

1990年代中期に登場した HAART 療法 (多剤併用療法) を主とした AIDS に対する化学療法は確かに大きな成果を挙げてきた。しかし、未だ短・中・長期的な種々の副作用、薬剤耐性変異株の出現など避けて通れない課題が山積して

いる。殊に薬剤耐性 HIV-1 に対する治療法の確立は最も重要な問題の一つとなっており、多剤耐性変異株にも強力な活性を示し、しかも耐性株が発生しない (発生しにくい) 新規の薬剤の開発が焦眉の課題となっている。我々はこれまで、多剤耐性 HIV-1 にも有効な抗 HIV 薬開発の一環として細胞側因子であるケモカインレセプター (CCR5) に対する一群のアンタゴニストの研究を進めてきたが、最近同定した spirodiketopiperazine 誘導体の一員, aplaviroc (AVC) が多剤耐性株を含む R5-HIV-1 の感染・増殖を試験管内で強力に抑制、動物モデル系 (NOG-SCID マウス) でも強力な抗ウイルス活性を発揮、一方でケモカイン (RANTES) の CCR5 への結合にはわずかしかな影響を与えず、RANTES の CCR5 を介した生理的作用を部分的にしか阻害しないことなどを明らかにしてきた。本講演ではそのような結果を報告し、加えてごく最近の AVC と CCR5 との相互作用の構造学的解析結果についても触れる。

2. 新規の CCR5 阻害剤 aplaviroc の同定と臨床開発

我々は2001年に CCR5 に対する一群 spirodiketopiperazine 誘導体を同定 (Maeda & Mitsuya, *J Biol Chem* 276 : 35194-35200, 2001), 次いで2004年にはその1つである aplaviroc / AK 602 (AVC) (図1) が試験管内で強力な活性を示し (IC₅₀ : 0.2 nM), 既存の抗 HIV-1 剤 [逆転写酵素阻害剤 (RTIs), プロテアーゼ阻害剤 (PIs)] と全く交差耐性を認めず (Maeda & Mitsuya, *J Virol* 78 : 8654, 2004), 動物モデル (huPBL-NOG-SCID マウス) の系でも強力な抗 HIV 活性を示すこと (Nakata & Mitsuya, *J Virol* 79 : 2087, 2005)

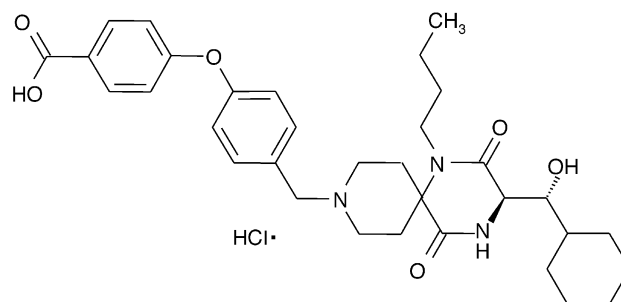


図1 Aplaviroc の構造

著者連絡先：松岡雅雄 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町
53 京都大学ウイルス研究所附属エイズ研究施設)
Fax : 075-751-4049

2006年6月5日受付

を報告した。また最近になって AVC が逆転写酵素阻害剤 (azidothymidine, nevirapine), プロテアーゼ阻害剤 (indinavir), 侵入阻害剤 (AMD3100, 可溶性 CD4), 融合阻害剤 (T-20) などとの併用で強い相乗効果を発揮することを示した (Nakata & Mitsuya, 投稿準備中)。また, AVC は

CCR5 に対する強力な結合親和性 (K_D 値: ~ 3 nM) を有しながら, ケモカイン (RANTES) の CCR5 への結合にはわずかしき影響を与えず, RANTES が CCR5 を介してもたらず生理的作用についても完全には阻害しないことを示した (Maeda & Mitsuya, *J Virol* 78 : 8654, 2004)。

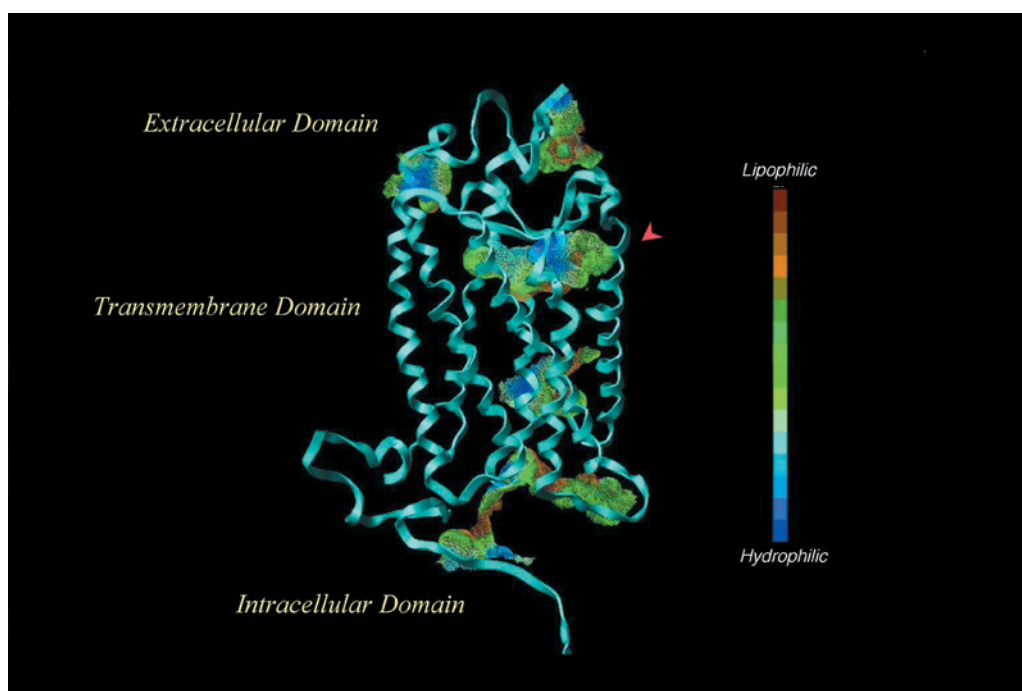


図 2 ウシロドプシンの結晶構造を基にしてモデリングしたヒト CCR5 の構造

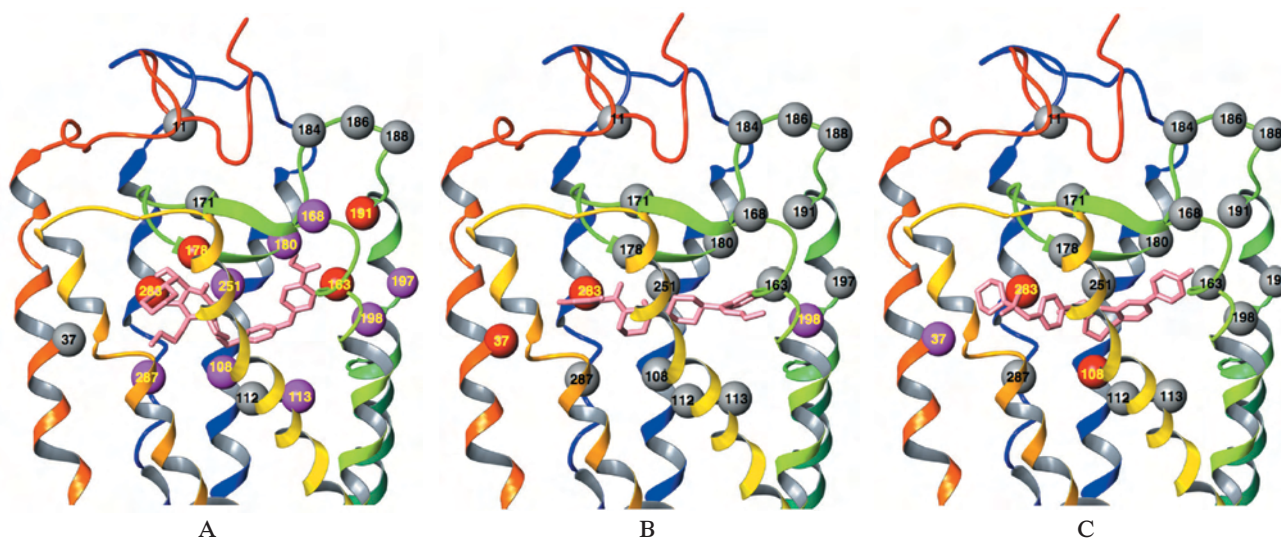


図 3 異なる CCR5 阻害剤の CCR5 との結合モデル。AVC (図 3-A), SCH-C (図 3-B), TAK-779 (図 3-C) のいずれも共通のポケットに結合するが, 結合に重要なアミノ酸は異なる [赤: 結合に非常に重要なアミノ酸 (K_D of > 200 nM), ピンク: 結合に重要なアミノ酸 (K_D of < 200 nM), グレイ: 結合に関連しないと思われるアミノ酸 (野生型の CCR5 に対する K_D の 3 倍以上)。一方でポケットの一部にケモカインへの影響が少なく HIV のみに重要な部位 (例えば Gly163, Ile198) が存在することが分かる。

3. APlaviroc と CCR5 の相互作用の構造学的解析

我々は 2006 年になって、上述した AVC の薬理学的・生物学的特徴を構造学的に解析するために³H ラベル CCR5 阻害剤と変異 CCR5 発現細胞株を用いた生物学的結合能解析実験系に CCR5・CCR5 阻害剤のコンピューターモデリングの手法を組み合わせた構造解析系を用いた詳細な解析結果を報告した (Maeda & Mitsuya, *J Biol Chem* 281 : 12688-12698, 2006)。そうした最新のデータでは AVC が CCR5 (図 2) の細胞外ドメインと上部膜貫通ドメインで形成される疎水性ポケットに結合しており (赤矢印)、その結合部位は他の構造を有する CCR5 阻害剤 (SCH-C, TAK-779) ともおおよそ一致するもののいくつかの領域でその結合様式が異なっていた (図 3) (Yin, Das, & Mitsuya, *Cell Mol Life Sci*, 2006, in press)。また我々は、既に複数の CCR5 阻害剤の詳細な結合様式解析 (ドッキングモデリング作成) を終了 (Maeda & Mitsuya, *J Biol Chem* 281 : 12688-12698, 2006)、現在より詳細なモデル構築を進め、spirodiketopiperidine とは異なったコンポーネントを有した新規の CCR5 阻害剤のデザインと合成を進めている。

4. APlaviroc の HIV-1 特異的な作用の構造学的解析

我々はまた、AVC が RANTES などのケモカインと CCR5 との相互作用を部分的にしかブロックしないことに注目、AVC を含む CCR5 阻害剤の結合に重要な CCR5 のポケットがケモカイン作用および HIV 感染に与える影響についてアミノ酸レベルでの詳細な検討も行ったところ、ポケットの一部 (第 4-5 膜貫通ドメイン近傍) に HIV-1 感染に重要でありながらケモカイン作用へはほとんど影響しない領域があることを明らかにした (図 3 ; Gly163, Ile198 など)。こうしたデータは、HIV-1 感染のみに重要な構造をターゲットとした低分子化合物をデザインすることでケモカインレセプターの生理的作用を阻害しない抗 HIV-1 薬のモデリングが可能であることを示すと思われる (Maeda & Mitsuya, *J Biol Chem* 281 : 12688-12698, 2006)。

ケモカインレセプター阻害剤は既存の抗 HIV 薬と異なり生体 (細胞) の分子を標的とした薬剤であるため、長期に亘りケモカイン作用を阻害することによる生体への影響は否定できない。実際に CCR5 を含むケモカインレセプターが各種感染症に対する免疫応答や移植片拒絶反応に関与しているという報告がある。今回の研究成果は薬剤の作用機序の詳細な構造学的解析により免疫系を含む生体への影響の少ない新規薬剤の計画的デザインの可能性を強く示唆すると思われる。

5. APlaviroc の HIV-1 感染者を対象とした臨床試験

AVC は米国での臨床試験 (第 3 相試験) で AIDS 患者に

単剤および併用で投与されて、強力な抗 HIV 活性を發揮することが示されたが、不測の肝障害が一部の患者で見られて臨床試験への新しい患者の enrollment は中断、現在我々が検討した多数の類似体 (congeners) の中から back-up の spirodiketopiperidine 誘導体を選定中である。

6. 結語

この研究から我々は AVC が CCR5 の細胞外ドメインと上部膜貫通ドメインで形成される疎水性ポケットに結合し、その結合様式は他の構造を有する CCR5 阻害剤 (SCH-C, TAK-779) といくつかの点で異なっていることを見出した。更に CCR5 の AVC 結合ポケットの一部 (第 4-5 膜貫通ドメイン近傍) に HIV-1 感染に重要でありながら、ケモカイン作用へはほとんど影響しない領域があることを明らかにし、HIV-1 感染のみに重要な構造をターゲットとした低分子化合物をデザインすることで、ケモカインレセプターの生理的作用を阻害しない抗 HIV-1 薬のモデリングが可能であることを示した。これらのデータは免疫系を含む生体への影響の少ない抗 HIV-1 作用に特化した新しい治療薬の同定、開発への道程を示すものと解される。

文 献

- 1) Maeda K, Yoshimura K, Shibayama K, Habashita H, Tada H, Sagawa K, Miyakawa T, Aoki M, Fukushima D, Mitsuya H : Novel low molecular weight spirodiketopiperazine derivatives potently inhibit R5 HIV-1 infection through their antagonistic effects on CCR5. *J Biol Chem* 276 : 35194-35200, 2001.
- 2) Nakata H, Maeda K, Miyakawa T, Shibayama S, Matsuo M, Takaoka Y, Ito M, Koyanagi Y, Mitsuya H : Potent anti-R5 human immunodeficiency virus type 1 effects of a CCR5 antagonist, AK602/ONO4128/GW873140, in a novel human peripheral blood mononuclear cell non-obese diabetic-SCID, interleukin-2 receptor γ -chain-knocked-out AIDS mouse model. *J Virol* 79 : 2087-2096, 2005.
- 3) Maeda K, Das D, Ogata-Aoki H, Nakata H, Miyakawa T, Tojo Y, Norman R, Takaoka Y, Ding J, Arnold E, Mitsuya H : Structural and molecular interactions of CCR5 inhibitors with CCR5. *J Biol Chem* 281 : 12688-12698, 2006.
- 4) Yin PD, Das D, Mitsuya H : Overcoming HIV drug resistance through rational drug design based on molecular, biochemical, and structural profiles of HIV resistance. *Cell Mol Life Sci*, 2006 (In press)

細胞傷害性 T 細胞による HIV-1 感染細胞の認識と HIV-1 の逃避機構を探る

滝口 雅文

熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野

HIV-1 感染者の体内では、HIV-1 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) による HIV-1 感染細胞の認識が弱まっており、HIV-1 の増殖の抑制ができないのではないかと考えられた。その機序として Nef による HLA クラス I 抗原の低下が大きく関与しているのではないかと考えられた。そこで、NL-432, NL-432 の Nef 蛋白の 20 番目のアミノ酸を置換した NL-M20A をそれぞれ感染させた CD4T 細胞を用いて、HIV-1 特異的 CTL クローンの認識を調べた。まず感染後に時間経過を追って HLA クラス I 抗原の細胞表面の発現をフローサイトメトリーで調べた。その結果、NL-432 を感染させた細胞では、HLA クラス I 抗原の細胞表面の発現が低下したが、一方 NL-M20A を感染させた細胞では、HLA クラス I 抗原の細胞表面での発現の低下が見られなかった。そこで、これらの HIV-1 感染細胞を用いて、CTL クローンによる、これらの HIV-1 ウイルスに対する HIV-1 増殖抑制能を調べた。2 種類の HLA-B*5101 拘束性、Pol 特異的 (Pol 283 および Pol743) CTL クローンは、NL432 および NL-M20A の増殖を完全に抑制した。一方、2 種類の HLA-A*3303 拘束性 CTL クローンと 1 種類の HLA-B5101 拘束性 Gag 特異的 CTL クローンは、NL-M20A の増殖を完全に抑制したが、NL-432 に対しては部分的にしか増殖抑制を

示さなかった。また、1 種類の HLA-B5101 拘束性 Rev 特異的 CTL クローンは、NL-432 の増殖抑制をまったく示さなかった (図 1A)。2 種類の HLA-B5101 拘束性 Pol 特異的 CTL のウイルス増殖抑制能を、HLA-B5101 拘束性 Gag 特異的 CTL と比べるために、CTL を希釈して HIV-1 増殖抑制能を調べたところ、約 1000 倍の強さを示した (図 1B)。次に HIV-1 感染細胞に対するこれら HIV-1 特異的 T 細胞クローンの細胞傷害性活性を調べた。2 種類の HLA-B5101 拘束性 Pol 特異的 CTL は、NL432 感染 CD4T 細胞に対して、強い細胞傷害活性を示した。一方、他の 4 クローンは、NL432 感染 CD4T 細胞に対しては、細胞傷害活性を示さなかった。我々は、他にも HLA-B*3501 拘束性 CTL などを調べたが、強い HIV-1 増殖抑制能を示すものは、見られなかった。これらの結果から、Nef による HLA クラス I の downregulation によって、多くの HIV-1 特異的 CTL はその認識が低下するが、一部に HIV-1 特異的 CTL の細胞傷害活性と HIV-1 増殖抑制に影響を受けない強い細胞傷害活性を持つ HIV-1 特異的 CTL が存在することが明らかになった。

一方、HIV-1 のもう一つの標的であるマクロファージに対する HIV-1 特異的 CTL の認識を調べた。ほとんどの HIV-1 特異的 CTL クローンは、NL-M20A に対しては強い抑制能を示した。一方、CD4T 細胞と違ってマクロファージ細胞に対しては、NL-432 に対してほとんどの CTL クローンで強い HIV-1 増殖抑制能が見られた。そこで、NL432 感染 CD4T 細胞と NL432 感染マクロファージの HIV-1 特異的 CD8T 細胞の増殖刺激能を調べたところ、

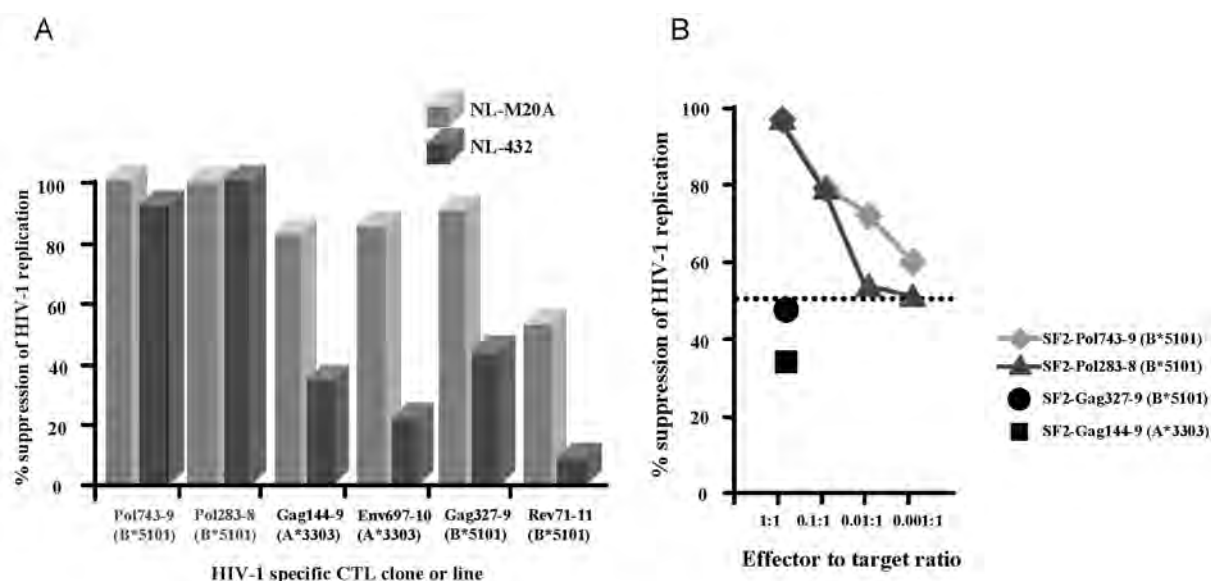


図 1 HIV-1 特異的 CTL の NL-432 増殖抑制能

NL432 感染マクロファージのみに強い刺激能が見られた。これらのことから、R5 ウイルス感染マクロファージは、体内での HIV-1 特異的 CD8T 細胞の増殖に関与していると考えられた。

HLA-B51 を持っている長期非進行者 (LTNP) および slow progressor では、2 つの Pol283 および Pol743 特異的 CTL により、体内でのウイルスの増殖が抑えられている可能性が示唆される。そこで、これらの血友病患者 7 名の末梢血中の Pol283 および Pol743 特異的 CD8T 細胞の数を測定するために、tetramer を作製した。これらのテトラマーと抗 CD8 抗体を用いて、患者 PBMC を染色し解析したところ、特異的 CD8T 細胞が検出できた。LTNP ではこれら 2 つの CD8T 細胞が検出できたが、slow progressor では、ウイルス量が低い一人では、両方の CD8T 細胞が検出できたが、他の者は、Pol283 特異的 CD8T 細胞のみ検出できた。これらのことから、両方のエピトープに対する CTL が、体内での HIV-1 の増殖抑制には必要と考えられた。

我々は、少なくとも 2 つの強い HIV-1 増殖抑制能を持った CTL が、体内での HIV-1 の増殖の抑制に必要であることを明らかにした。

文 献

- 1) Tomiyama H, Akari H, Adachi A, Takiguchi M : Different effects of Nef-mediated HLA class I down-regulation on HIV-1-specific CD8⁺ T cell cytolytic activity and cytokine production. *J Virol* 76 : 7535-7543, 2002.
- 2) Tomiyama H, Fujiwara M, Oka S, Takiguchi M : Cutting edge : Epitope-dependent effect of Nef-mediated HLA class I down-regulation on ability of HIV-1-specific CTLs to suppress HIV-1 replication. *J Immunol* 174 : 36-40, 2005.
- 3) Fujiwara M, Takata H, Oka S, Tomiyama H, Takiguchi M : Patterns of cytokine production in HIV-1-specific human CD8⁺ T cells after stimulation with HIV-1-infected CD4⁺ T cells. *J Virol* 79 : 12536-12543, 2005.

成人 T 細胞白血病の発症予防と免疫治療の展望

神奈木真理

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科免疫治療学分野

はじめに

T 細胞白血病ウイルス I 型 (Human T-cell leukemia virus type I, HTLV-I) 感染では、一部が成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia, ATL)^{1,2)} を、別の一部が HTLV- I 随伴脊髄症/熱帯性瘧疾性対麻痺 (HTLV- I associated myelopathy/

tropical spastic paraparesis, HAM/TSP)^{3,4)} その他の炎症性疾患を発症するが、感染者の大部分は無症候である。ATL 発症に関連する疫学的要因として HTLV- I の垂直感染と末梢血異型リンパ球増加 (高プロウイルス量) が指摘されている^{5,6)}。

種々の HTLV- I 感染疾患の間で HTLV- I 株には明らかな差がないが、免疫学的にはかなりの違いがある。無症候 HTLV- I 感染者の末梢血中リンパ球に抗原刺激を加え培養すると、HTLV- I 特異的キラー T 細胞 (CTL) を誘導できるが、HAM/TSP 患者ではこの CTL 誘導率が高く ATL 患者では低い。我々は、HTLV- I に対する宿主免疫応答の差がどのように疾患発現に影響し、免疫学的な予防や治療が可能であるのかという点について研究を進めた。

ATL の免疫学的リスク

HTLV- I 感染者間に見られる HTLV- I 特異的免疫応答の大きな個体差が何によって生じるかは明らかでないが、HTLV- I 感染条件や HLA がその候補として挙げられる。HTLV- I の主要感染経路は垂直感染であり大部分は母乳を介して感染する。この他、性感染や注射針を介した水平感染もある。このうち垂直感染では、免疫系の未発達や抗原の経口摂取が低免疫応答の要因となる可能性がある。

我々は、成体ラットに種々の経路から HTLV- I 感染させ、腹腔内接種では強い HTLV- I 特異的免疫応答が認められるのに対し、経口接種では著しく低いことを見出した⁷⁾。これらのラットは HTLV- I に持続感染し、個体間のばらつきはあるものの経口感染群の方が腹腔感染群より有意に高いプロウイルス量を示した⁸⁾。さらに、経口感染により低免疫応答を示す個体に、不活化した感染細胞を皮下免疫すると HTLV- I 特異的 T 細胞応答は回復し、HTLV- I プロウイルス量は減少した。

これらの結果は、宿主の遺伝的背景が同じでも、経口感染では HTLV- I に対する宿主免疫応答が低くなり、そのためプロウイルス量は増大することを示している。従って、疫学的 ATL 発症リスクである垂直感染と高プロウイルス量は、免疫学的リスクである HTLV- I 特異的 T 細胞低応答のそれぞれ原因と結果の関係にあることが示唆された。

HTLV- I 感染における抗腫瘍免疫

HTLV- I 特異的 CTL が生体内で実際に抗腫瘍効果を持っているかどうかについての傍証は数多くある。HTLV- I 特異的 CTL 応答が ATL 患者で減弱していること、HTLV- I 特異的 CTL の主要標的抗原が Tax であること、Tax 特異的 CTL が短時間培養した ATL 細胞を傷害できることなどである。また、ラットモデルの HTLV- I 感染リンパ腫形成は、Tax を標的とする DNA ワクチンやペプチドワク

チンで誘導された T 細胞によって消退する^{9,10}。これらの観察は、Tax 特異的 CTL が生体内で抗腫瘍監視機構として働くことを示している。

ATL における宿主免疫

造血幹細胞移植を受け寛解した ATL 症例で興味ある所見が得られている¹¹。移植後の ATL 患者由来の末梢血リンパ球を刺激培養した結果、増殖してきた細胞の半数以上が 1 種類の Tax エピトープを認識する HTLV-I 特異的 CTL であった。これは、ドナー由来の T 細胞が ATL 患者生体内の HTLV-I Tax の抗原提示に対し免疫応答をおこした結果と考えられる。限られた Tax エピトープに対する CTL 応答は、HAM/TSP 患者に時々認められ、HTLV-I 抗原提示とそれに対する免疫応答の強い活性化を反映すると考えられる。従って、移植後 ATL 患者生体内でも有効な Tax 抗原提示が存在したことは明らかである。

しかし、同症例の移植前の末梢血リンパ球からは、このような CTL 誘導は認められなかった。同じエピトープのテトラマーで染色される HTLV-I 特異的 CTL は存在したが、*in vitro* で刺激しても増殖できない状態であり、何らかの免疫抑制あるいは免疫寛容機序が関与していると思われる。ドナー HLA は完全にレシピエントと一致していたので、HTLV-I 特異的 CTL の活性化が移植後にだけ見られた理由は少なくとも HLA に起因するものではない。

同様の Tax 特異的 CTL 活性化現象は、寛解を維持している複数の移植後 ATL 患者に認められている。このような症例では、Tax 特異的 CTL は移植片対白血病 (GVL) 効果あるいは再発防止に貢献しているのではないかと考えられる。

ATL 細胞の HTLV-I 発現能

ATL 細胞の HTLV-I 抗原発現をフローサイトメーターで調べると、分離直後の ATL 細胞にウイルス抗原は検出できないものの、約半数の ATL 症例では ATL 細胞を数時間培養すると HTLV-I 抗原を発現する¹²。同様の現象は、無症候 HTLV-I 感染者や HAM/TSP 患者末梢血中の感染細胞でも共通に認められ、HTLV-I 抗原発現能の観点からいえば ATL 症例の半数と同じカテゴリーに入る。非 ATL 感染者において HTLV-I 特異的 T 細胞応答が抗腫瘍監視機構として働くとすれば、HTLV-I 発現能を保持している ATL 細胞は宿主免疫の守備範囲内であることが期待され、ワクチン等による HTLV-I 特異的免疫賦活は試行価値があると考えられる。しかし、残り半数の ATL 症例では HTLV-I 発現能は既に失われており、Tax を標的とする免疫療法の対象とはなり得ない。

おわりに

我々の結果は、HTLV-I 特異的 T 細胞の低応答性は免疫学的 ATL 発症リスクであり、免疫の再賦活化によって発症リスクを下げられる可能性を示している。また、長年にわたる感染細胞の生体内進化によって発症した ATL でも症例の半数では HTLV-I 感染症としての片鱗を残しており、免疫療法の対象となる可能性があると考えられる。

文 献

- 1) Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H : Adult T-cell leukemia : clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 50 : 481, 1977.
- 2) Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI, Shirakawa S, Miyoshi I : Adult T-cell leukemia : antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA* 78 : 6476, 1981.
- 3) Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, Matsumoto M, Tara M : HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* 1 : 1031, 1986.
- 4) Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de The G : Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 2 : 407, 1985.
- 5) Tajima K : The 4th nation-wide study of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) in Japan : estimates of risk of ATL and its geographical and clinical features. The T- and B-cell Malignancy Study Group. *Int J Cancer* 45 : 237, 1990.
- 6) Hisada M, Okayama A, Tachibana N, Stuver SO, Spiegelman DL, Tsubouchi H, Mueller NE : Predictors of level of circulating abnormal lymphocytes among human T-lymphotropic virus type I carriers in Japan. *Int J Cancer* 77 : 188, 1998.
- 7) Kato H, Koya Y, Ohashi T, Hanabuchi S, Takemura F, Fujii M, Tsujimoto H, Hasegawa A, Kannagi M : Oral administration of human T-cell leukemia virus type 1 induces immune unresponsiveness with persistent infection in adult rats. *J Virol* 72 : 7289, 1998.
- 8) Hasegawa A, Ohashi T, Hanabuchi S, Kato H, Takemura F, Masuda T, Kannagi M : Expansion of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) reservoir in orally infected rats : Inverse correlation with HTLV-1-specific cellular immune response. *J Virol* 77 : 2956, 2003.
- 9) Ohashi T, Hanabuchi S, Kato H, Tateno H, Takemura F, Tsukahara T, Koya Y, Hasegawa A, Masuda T, Kannagi

M : Prevention of adult T-cell leukemia-like lymphoproliferative disease in rats by adoptively transferred T cells from a donor immunized with human T-cell leukemia virus type 1 Tax-coding DNA vaccine. *J Virol* 74 : 9610, 2000.

- 10) Hanabuchi S, Ohashi T, Koya Y, Kato H, Hasegawa A, Takemura F, Masuda T, Kannagi M : Regression of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I)-associated lymphomas in a rat model : peptide-induced T-cell immunity. *J Natl Cancer Inst* 93 : 1775, 2001.
- 11) Harashima N, Kurihara K, Utsunomiya A, Tanosaki R, Hanabuchi S, Masuda M, Ohashi T, Fukui F, Hasegawa A, Masuda T, Takaue Y, Okamura J, Kannagi M : Graft-versus-Tax response in adult T-cell leukemia patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Res* 64 : 391, 2004.
- 12) Kurihara K, Harashima N, Hanabuchi S, Masuda M, Utsunomiya A, Tanosaki R, Tomonaga M, Ohashi T, Hasegawa A, Masuda T, Okamura J, Tanaka Y, Kannagi M : Potential immunogenicity of Adult T cell Leukemia cells in vivo. *Int J Cancer* 114 : 257-267, 2005.

HTLV- I 感染からキャリア状態へ至る分子機構

松岡 雅雄

京都大学ウイルス研究所附属エイズ研究施設

ヒトレトロウイルスであるヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV- I) とヒト免疫不全ウイルス (HIV) は共にヒトに感染するレトロウイルスであり, 調節遺伝子を有する complex retrovirus である。両者は調節遺伝子により, そのコピー数を増加させるが, その戦略は大きく異なる。HIV は Vif により抗レトロウイルス作用のある APOBEC3G の分解を亢進し, Nef により MHC クラス I 抗原の発現を減弱させ細胞傷害性 T リンパ球から逃れるなど調節遺伝子の作用により極めて巧妙に複製を行っている。その結果, 膨大な数のウイルス粒子を産生し生体の免疫機構を破壊している。

HTLV- I は感染細胞を増加させるという戦略を取っている。ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV- I) は glucose transporter 1 を受容体として感染するが, その感染には細胞間の接触が不可欠である。すなわち感染細胞が体内に入ると非感染細胞と接触しウイルス学的シナプスを形成し, pre-integration complex が非感染細胞へと移入される。HTLV- I では遊離ウイルスが体内で存在せず, また試験管内での感染効率も極めて悪い。このように感染成立に感染細胞を

必要とするため HTLV- I は tax を始めとする調節遺伝子により感染細胞を増やすという戦略を取っている。NOD-SCID/common gamma chain ノックアウトマウスに正常人リンパ球を移入すると T リンパ球の増殖が起こる。この時にマイトマイシン C で処理した MT-2 細胞を同時に移入し HTLV- I の感染を成立させると感染細胞の著しい増加が認められる。感染細胞の増殖はクローナルであり, キャリアで認められる増殖様式に類似している。またキャリアと同様にマウス体内で感染細胞の tax 遺伝子発現は抑制された状態となっているが, 試験管内へ移すことにより発現の増加が認められる。HTLV- I 感染細胞の増加は逆転写酵素阻害剤で阻止されることから, ウイルス複製が感染細胞の増加の必須因子であることがわかる。しかし, 感染後, 時間をおいて逆転写酵素阻害剤を投与すると感染細胞数の増加はコントロールと差がなく, 感染初期に感染が拡大した後は感染細胞のクローナル増殖が感染細胞を増やす主体となることを示している。キャリアの解析から感染細胞はウイルス抗原の発現が少ない細胞が生体内で選択されていることが示唆されている。これは宿主免疫機構からの選択圧によるものと理解される。

Tax は NF- κ B, CREB, SRF などの転写経路の活性化, p53 の機能的抑制により感染細胞のクローナルな増殖を引き起こすと考えられており, 発がん過程でも中心的な役割を果たすと予想されてきた。しかし, 腫瘍細胞では, しばしば Tax の発現は認められない。我々はこのような Tax の産生を阻害する機序として 1) tax 遺伝子の変異・欠失, 2) ウイルス遺伝子転写のプロモーター・エンハンサーである 5'側 long terminal repeat (LTR) の DNA メチル化, 欠失が存在することを報告してきた。このような知見から ATL となった時点では tax 遺伝子が必要ではないということが予想される。しかし, 全ての ATL 細胞は HTLV- I プロウイルスを有しており, 3'側 LTR には欠失, メチル化は認められない。このことは実は 3'側 LTR こそが腫瘍化に重要である可能性を示している。3'側 LTR は HTLV- I プロウイルスのマイナス鎖によってコードされる HTLV- I bZIP factor (HBZ) 遺伝子のプロモーターである。このことから我々は HBZ 遺伝子こそが腫瘍化に必須の遺伝子ではないかと考え研究を進めた。新たな HBZ 遺伝子のスプライシングを見出し, この転写産物が全ての ATL 細胞で発現していることを明らかにした。HBZ 遺伝子は T リンパ球の増殖に関与しており, RNA として, その機能を発揮していることが示唆された。

HTLV- I が感染細胞のクローナル増殖によりコピー数を増加させるという戦略を取ったために, その副産物として成人 T 細胞白血病という“がん”を起こすに至ったと考えられる。発がんには tax と HBZ というウイルス遺伝子が重

要な働きをしていると予想され、今後、その解析から HTLV- I による発がんの詳細な機構が明らかになっていくであろう。また HBZ を標的とした感染細胞の増殖抑制は発症の阻止、ATL の治療へと繋がる可能性が期待される。

文 献

- 1) Tamiya S, Matsuoka M, Etoh K, Watanabe T, Kamihira S, Yamaguchi K, Takatsuki K : Two types of defective human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) provirus in adult T cell leukemia. *Blood* 88 : 3065-3073, 1996.
- 2) Matsuoka M : Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection and the onset of adult T-cell leukemia (ATL). *Retrovirology* 2 : 27, 2005.
- 3) Taniguchi Y, Nosaka K, Yasunaga J-I, Maeda M, Mueller N, Okayama A, Matsuoka M : Silencing of human T-cell leukemia virus type I gene transcription by epigenetic mechanisms. *Retrovirology* 2 : 64, 2005.
- 4) Satou Y, Yasunaga J-I, Yoshida M, Matsuoka M : The HTLV- I bZIP factor gene mRNA supports proliferation of adult T-cell leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 : 720-725, 2006.