

Tax-expressing cell lines exhibited resistance to apoptosis induced by traditional anticancer drugs, in which upregulations of MDR1 and LRP have been proposed as mechanisms.²⁶ In addition, Tax can activate NF- κ B, which would lead to upregulation of antiapoptotic gene products, such as Bcl-2, Bcl-xL and inhibitors of apoptosis proteins. These actions of Tax render HTLV-I transformed cells resistant to apoptosis induced by anti-cancer drugs or Fas-mediated signals.¹⁸ Such resistance against apoptosis conferred by Tax might account for the poor response of ATL cells to anticancer drugs. In this regard, it is noteworthy that bortezomib was effective against both Tax-expressing and Tax nonexpressing cells, indicating that bortezomib could overcome the resistance conferred by Tax protein. On the other hand, it is controversial whether Tax is expressed and plays a role in the proliferation of ATL cells *in vivo*. ATL cells frequently lose the expression of Tax by several mechanisms: loss of the 5'-LTR, nonsense mutations of the tax gene, and silencing by DNA methylation.¹⁶ However, there have been several reports of the detection of Tax expression in fresh ATL cells, which might be implicated in the resistance of ATL cells. Since such ATL cells expressing Tax protein are considered to be an impediment for therapy, bortezomib should be an attractive agent against such ATL cells.

Although NF- κ B activation in HTLV-I associated cell lines was inhibited by bortezomib through blockade of I κ B α degradation, the changes in I κ B α expression induced by bortezomib were different between Tax-expressing and Tax nonexpressing cell lines. The decreases in basal I κ B α expression were demonstrated in Tax-expressing cell lines, but not in Tax nonexpressing cell lines, while both types of cell lines exhibited constitutive NF- κ B activation. The common finding observed after bortezomib exposure in both types of cell lines was the accumulation of phosphorylated I κ B α . It has been reported that phosphorylation of I κ B α alone was not enough to release active NF- κ B, but that subsequent degradation was necessary to activate NF- κ B.²⁷ Thus, our results revealed that accumulation of phosphorylated I κ B α , but not the nonphosphorylated form, could inhibit NF- κ B activity, and induce apoptosis.

It has been previously reported that bortezomib was a potential therapeutic agent for ATL in combination with an anti-CD25 antibody, but that treatment with bortezomib alone was not sufficient for inhibition of tumor growth *in vivo*.²¹ In this study, bortezomib monotherapy showed sufficient activity to suppress tumor cell growth *in vivo*. Although this discrepancy might be derived from differences in the treatment regimen and/or tumor cell characters, our study suggests further potential for bortezomib against ATL cells.

In conclusion, we showed the potential effects of bortezomib on ATL *in vitro* and *in vivo* by inhibition of NF- κ B activation. These results suggest that bortezomib has potential as an antitumor agent against the fatal neoplastic disease, ATL.

Acknowledgements

We thank E Kodama and S Adachi for their valuable advice, Y Namba for supplying the anti-Tax antibody (M173), M Maeda for supplying the ATL cell lines, and Y Maeda and K Akasaka for providing samples from ATL patients. We are grateful to P Miyazato and K Doi for their technical assistance. This study was supported in part by a grant-in-aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan.

Supplementary Information

Supplementary Information accompanies the paper on the Leukemia website (<http://www.nature.com/leu>).

References

- Takatsuki K, Uchiyama T, Sagawa K, Yodoi J. Adult T cell leukemia in Japan. In: Seno S, Takaku F, Irino S (eds). *Topic in Hematology, the 16th International Congress of Hematology*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1977, pp 73–77.
- Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 1977; **50**: 481–492.
- Yamada Y, Tomonaga M, Fukuda H, Hanada S, Utsunomiya A, Tara M *et al*. A new G-CSF-supported combination chemotherapy, LSG15, for adult T-cell leukaemia-lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study 9303. *Br J Haematol* 2001; **113**: 375–382.
- Matsuoka M. *Adult T-cell leukemia/lymphoma*. In: Goedert JJ (ed). *Infectious Causes of Cancer*. Totowa: Humana Press, 2000, pp 221–229.
- Yasunaga J, Sakai T, Nosaka K, Etoh K, Tamiya S, Koga S *et al*. Impaired production of naive T lymphocytes in human T-cell leukemia virus type I-infected individuals: its implications in the immunodeficient state. *Blood* 2001; **97**: 3177–3183.
- Yoshida M. Multiple viral strategies of HTLV-1 for dysregulation of cell growth control. *Annu Rev Immunol* 2001; **19**: 475–496.
- Jeang KT. Functional activities of the human T-cell leukemia virus type I Tax oncoprotein: cellular signaling through NF-kappa B. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; **12**: 207–217.
- Hoyos B, Ballard DW, Bohnlein E, Siekevitz M, Greene WC. Kappa B-specific DNA binding proteins: role in the regulation of human interleukin-2 gene expression. *Science* 1989; **244**: 457–460.
- Mori N, Fujii M, Ikeda S, Yamada Y, Tomonaga M, Ballard DW *et al*. Constitutive activation of NF-kappaB in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood* 1999; **93**: 2360–2368.
- Adams J, Palombella VJ, Sausville EA, Johnson J, Destree A, Lazarus DD *et al*. Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res* 1999; **59**: 2615–2622.
- Almond JB, Cohen GM. The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 2002; **16**: 433–443.
- Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Jagannath S, Irwin D *et al*. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med* 2003; **348**: 2609–2617.
- Hideshima T, Mitsiades C, Akiyama M, Hayashi T, Chauhan D, Richardson P *et al*. Molecular mechanisms mediating anti-myeloma activity of proteasome inhibitor PS-341. *Blood* 2003; **101**: 1530–1534.
- Maeda M, Arima N, Daitoku Y, Kashiwara M, Okamoto H, Uchiyama T *et al*. Evidence for the interleukin-2 dependent expansion of leukemic cells in adult T cell leukemia. *Blood* 1987; **70**: 1407–1411.
- Nosaka K, Maeda M, Tamiya S, Sakai T, Mitsuya H, Matsuoka M. Increasing methylation of the CDKN2A gene is associated with the progression of adult T-cell leukemia. *Cancer Res* 2000; **60**: 1043–1048.
- Takeda S, Maeda M, Morikawa S, Taniguchi Y, Yasunaga J, Nosaka K *et al*. Genetic and epigenetic inactivation of tax gene in adult T-cell leukemia cells. *Int J Cancer* 2004; **109**: 559–567.
- Okada M, Adachi S, Imai T, Watanabe KI, Toyokuni SY, Ueno M *et al*. A novel mechanism for imatinib mesylate-induced cell death of BCR-ABL-positive human leukemic cells: caspase-independent, necrosis-like programmed cell death mediated by serine protease activity. *Blood* 2004; **103**: 2299–2307.
- Copeland KF, Haaksma AC, Goudsmit J, Krammer PH, Heeney JL. Inhibition of apoptosis in T cells expressing human T cell leukemia virus type I Tax. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994; **10**: 1259–1268.
- Yamaoka S, Courtois G, Bessia C, Whiteside ST, Weil R, Agou F *et al*. Complementation cloning of NEMO, a component of the

- IkappaB kinase complex essential for NF-kappaB activation. *Cell* 1998; **93**: 1231-1240.
- 20 Jin DY, Giordano V, Kibler KV, Nakano H, Jeang KT. Role of adapter function in oncoprotein-mediated activation of NF-kappaB. Human T-cell leukemia virus type I Tax interacts directly with IkappaB kinase gamma. *J Biol Chem* 1999; **274**: 17402-17405.
- 21 Tan C, Waldmann TA. Proteasome inhibitor PS-341, a potential therapeutic agent for adult T-cell leukemia. *Cancer Res* 2002; **62**: 1083-1086.
- 22 Jaattela M, Tschopp J. Caspase-independent cell death in T lymphocytes. *Nat Immunol* 2003; **4**: 416-423.
- 23 Holler N, Zaru R, Micheau O, Thome M, Attinger A, Valitutti S et al. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nat Immunol* 2000; **1**: 489-495.
- 24 Matsumura H, Shimizu Y, Ohsawa Y, Kawahara A, Uchiyama Y, Nagata S. Necrotic death pathway in Fas receptor signaling. *J Cell Biol* 2000; **151**: 1247-1256.
- 25 Uzzo RG, Dulin N, Bloom T, Bukowski R, Finke JH, Kolenko V. Inhibition of NFkappaB induces caspase-independent cell death in human T lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **287**: 895-899.
- 26 Lau A, Nightingale S, Taylor GP, Gant TW, Cann AJ. Enhanced MDR1 gene expression in human T-cell leukemia virus-I-infected patients offers new prospects for therapy. *Blood* 1998; **91**: 2467-2474.
- 27 Lin YC, Brown K, Siebenlist U. Activation of NF-kappa B requires proteolysis of the inhibitor I kappa B-alpha: signal-induced phosphorylation of I kappa B-alpha alone does not release active NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; **92**: 552-556.



HTLV-1の感染から成人T細胞 白血病発症までの分子機構

*Molecular mechanism of leukemogenesis :
from HTLV-1 infection and onset of adult T-cell leukemia*

松岡 雅雄
MATSUOKA Masao

成人T細胞白血病／リンパ腫

Key words 成人T細胞白血病 ヒトT細胞白血病ウイルス1型 Tax DNAメチル化

1977年に独立した疾患概念として確立された成人T細胞白血病は、その原因ウイルスであるHTLV-1の発見により、その病態、疫学の理解が一挙に進んだ。HTLV-1のコードするTaxの解析を中心に発がん機構の解析は進み、その巧妙な働きが明らかになったが、何故ATLが起きるかという問いに対する答えは、未だ得られていない。ヒトT細胞白血病ウイルス1型(human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1)の感染から約60年という長い潜伏期間の後に一部のキャリアは成人T細胞白血病(adult T-cell leukemia: ATL)を発症する。HTLV-1は生体内でTaxを始めとするウイルス蛋白質の働きにより感染細胞のクローナルな増殖を起こし、その遺伝情報を増やす戦略を取っている。しかし、ウイルス抗原発現は同時に宿主免疫系からの攻撃を招くためにウイルス抗原の発現を抑える機序も働く。このような経過の中でゲノムDNAに遺伝的(genetic)または後生的(epigenetic)な変化の蓄積により発がんに至ると考えられる。本稿ではHTLV-1感染からATL発症に至る過程を分子生物学的に解説し、発がん機構の最新の知見を概説する。

I. HTLV-1感染からATL発症までの 自然経過

現在、日本におけるATL発症平均年齢は約60歳であり、母乳による垂直感染が主であることを考えると感染から発症まで約60年という長い潜伏期間が存在することになる。そして生涯発症率は

男性で約6%、女性で2%と考えられている¹⁾。

HTLV-1の感染はTリンパ球に特異的ではなくBリンパ球、単球、繊維芽細胞など多くの細胞種に感染しうる。加えてラット、ラビットなど異種細胞にも感染させることが可能である。このことからさまざまな細胞に普遍的に存在する分子が受容体であろうと考えられてきたが、最近、HTLV-1の受容体としてGlucose transporter 1が同定された²⁾。では、どのような感染様式で感染するのだろうか？HTLV-1感染の場合、血中には遊

京都大学ウイルス研究所附属エイズ研究施設感染免疫研究領域教授

離のウイルス粒子は検出されない。また試験管内でも遊離 HTLV-1 の感染効率はきわめて悪く感染細胞と標的細胞を共培養した場合に効率良く感染が成立する。このことから HTLV-1 の感染には細胞と細胞の接着が重要であろうと考えられてきた。感染細胞と標的細胞が接着すると Gag, Env 蛋白質が接触面へ集積してくるとともにタリンも集合してくる。この接触面には微小管形成中心 (microtubule organizing center : MTOC) が Gag 蛋白質に近接して観察されている。これは Gag 蛋白質の集積に微小管が重要な役割を果たしていることを示している。接触面に集まった Gag 蛋白質、ウイルスゲノム RNA は次に標的細胞へ移行し、感染が成立する。このように感染成立には細胞と細胞の接触が必要であり、その接触面からウイルスゲノム RNA 等が移行する。しかし、感染後、体内で HTLV-1 プロウイルスは主に CD4 陽性 T リンパ球に検出されることから感染後、CD4 陽性 T リンパ球の増殖を誘導すると考えられる。この機構には Tax 等のウイルス蛋白と相互作用する細胞内因子に特異性があるからであろう。

HTLV-1 は感染後、主に CD4 陽性 T リンパ球のクローナルな増殖を起こし、このクローンは生体内で長期に渡って存在する。HTLV-1 は新規の感染も起こしていると考えられるが、主に感染細胞をクローナルに増殖させることによって、その遺伝情報の増幅を行っている。この場合、細胞側 DNA 複製酵素によって複製が起こるためにプロウイルスの“塩基の間違い”は少なく、このため HTLV-1 では塩基配列の変異率が低いと考えられている。これは生体内で爆発的なウイルスの複製が起こり、間違いやすい (error-prone) 逆転写酵素が複製に常に関与するために変異率がきわめて多いヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus : HIV) との大きな違いである。HIV の場合は、この大きな変異が薬剤耐性の獲得、宿主免疫監視機構からの逃避の原因であり、その治療を困難なものにしている。

このような HTLV-1 が遺伝情報を増幅させる

ために取った、感染細胞を増殖させるというストラテジーの副産物として“がん”すなわち、ATL が発生するものと理解される。感染細胞を増殖させるという戦略には何が重要であろうか？ HTLV-1 は gag, pol, env といった外皮蛋白質、逆転写酵素などのウイルス構成蛋白質をコードする遺伝子以外にいくつかの調節遺伝子を有している。それは主に env と 3'-LTR の間に存在する pX 領域にコードされる tax, rex, p12, p30, p21 などである (図 1)。これらの中でも tax 遺伝子が感染細胞の増殖、発がんに中心的な役割を果たしていると考えられている⁴⁾。Tax はウイルス LTR に作用してウイルス遺伝子の転写を亢進するだけでなく細胞側因子と相互作用して細胞機能の変化を誘導することが知られている。その変化とは以下のようなものである (図 2)³⁾。

1. 転写経路の活性化

NF- κ B, CREB, SRF 等の転写経路を活性化しさまざまな増殖因子、受容体、アポトーシス関連遺伝子の転写を活性化する。NF- κ B の活性化は Bcl-xL などのアポトーシス抵抗性遺伝子の転写活性化によりアポトーシスを阻害する。

2. 転写抑制

p18, lck, DNA ポリメラーゼ β 遺伝子の転写を抑制する。

3. 機能的抑制

p53, p16, MAD1 などの作用を抑制する。p53 の抑制はアポトーシス回避につながる。これらの作用によって Tax は感染細胞の増殖を促しアポトーシスを抑制し感染細胞の増加をもたらしているものと考えられる。同時に p53 の機能障害や DNA ポリメラーゼ β の抑制は遺伝的不安定性の増加に直結し ATL の発症に関連している。

一方、Tax は細胞傷害性 T リンパ球の主な標的分子であると同時に過剰な Tax の発現はアポトーシスを誘導することもある。したがって、過

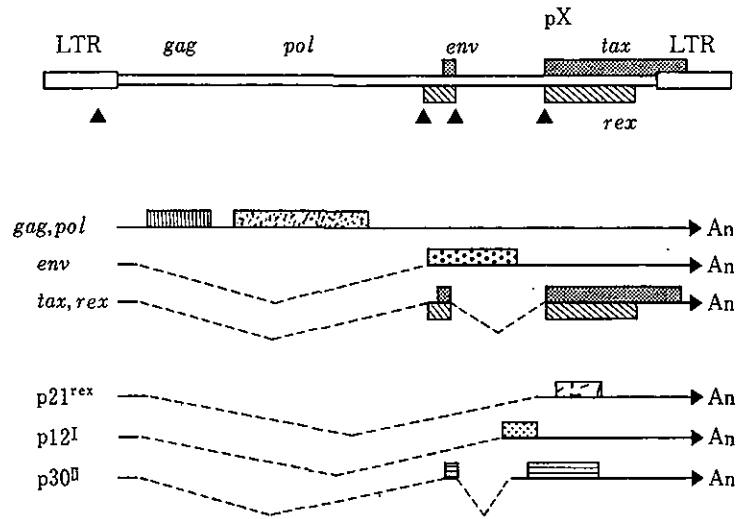


図1 HTLV-1 プロウイルスの構造とコードする遺伝子

HTLV-1プロウイルスは、その両端に long terminal repeat (LTR), 内部に gag, pol, env を有する。これ以外に env と3'-LTR の間に pX 領域がありさまざまな調節遺伝子をコードしている。代表的な tax, rex に加えて p21, p12, p30 などがウイルスの複製, 感染細胞の増殖に作用している。▲はスプライシングサイトを表している。

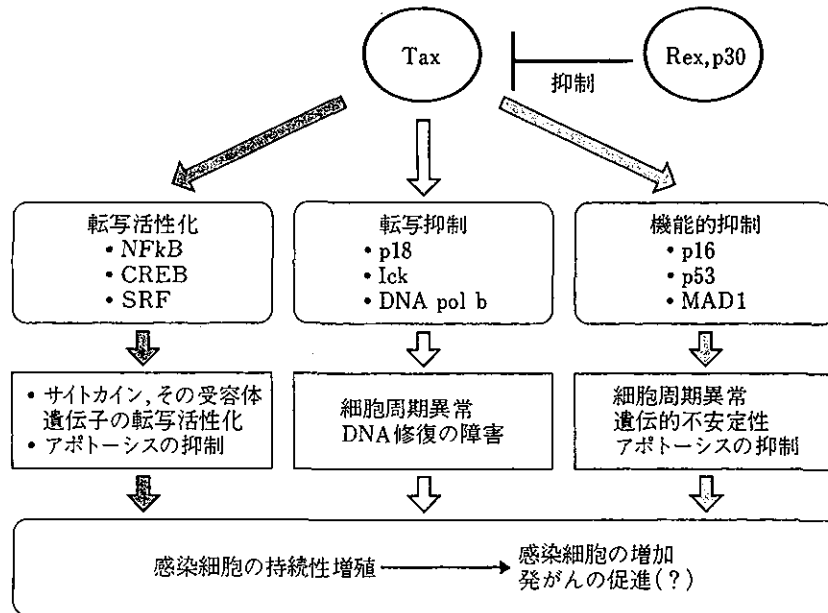


図2 Tax の多面的作用

Tax は転写因子経路の活性化, または転写抑制, さらには p53, p16, MAD1 などの機能的抑制により感染細胞の持続性増殖を誘導し, アポトーシスを阻止する。このような作用により感染細胞数を増やし, そのコピー数を増加させるとともに p53 の機能障害や DNA ポリメラーゼβの抑制は遺伝的不安定性の増加に繋がる。

剰な Tax の発現は感染細胞にとってもマイナスの効果を持つためウイルスは Tax の産生を抑える機構も複数, 備えている。Rex はスプライシングされないウイルス RNA を増加させるため tax 遺伝子の転写は抑制される。p30 は tax mRNA が核外へ移行することを阻害することによって

Tax 蛋白の増加を抑えている。

II. ATL 細胞における tax 遺伝子不活化機構

HTLV-1 でトランスフォームした細胞株では

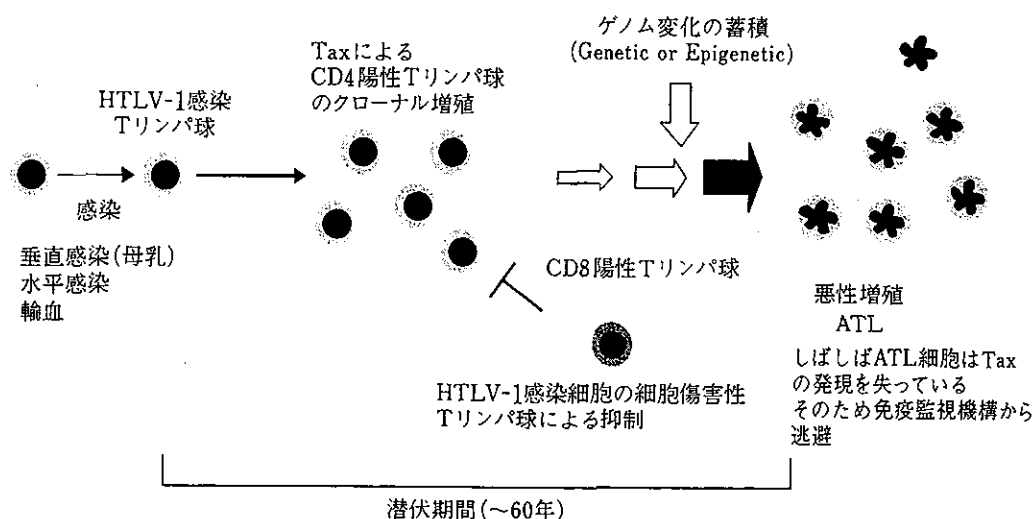


図3 HTLV-1感染からATLの発症へ至る自然経過
HTLV-1の感染からATL発症に至る経過を示す。

Tax を含むウイルス抗原が発現しているが、すべての新鮮 ATL 細胞が tax 遺伝子を発現している訳ではない。新鮮 ATL 細胞で tax 遺伝子の転写を調べると34%で検出された⁵⁾。また、HTLV-1 プロウイルスの構造を解析すると11% (5例)で tax 遺伝子の変異・欠失・挿入といった遺伝的变化を認めた。このような腫瘍細胞では最早、Tax 蛋白は産生されない。では tax 遺伝子転写産物が認められなかったケースではどのような変化が起こっているのであろうか? Tax 遺伝子の転写を抑制する機序としてウイルス遺伝子転写のプロモーターである5'側LTRのDNAメチル化がある。この場合、部分的なメチル化は転写を抑制できず完全なメチル化がある場合に抑制が起こる。5'-LTRのメチル化は半数以上の例で認めたものの多くは部分的なDNAメチル化であり、ほぼ完全なメチル化は4例に認めたのみであった。このことからDNAメチル化によるウイルス遺伝子転写の抑制の頻度は、それほど、高くないことがわかる。欠損型プロウイルスのうち、2型欠損型は5'-LTRとプロウイルス内部の配列に欠失がある⁶⁾。このようなプロウイルスではプロモーター・エンハンサーである5'-LTRを欠くために転写効率が低下すると考えられる。この2型欠損型プロウイルスは28%の症例で認められた。以上を総合すると47

例中、遺伝的变化でTaxを最早、産生できないものが11%、DNAメチル化によりウイルス遺伝子の転写が抑制されているものが9%、2型欠損型プロウイルスが28%であった。2型欠損型プロウイルスはenv付近に存在する内部プロモーターで転写が起こるか、細胞側遺伝子のプロモーターをトラップしている可能性もあるが、この結果からATLではTaxの発現を弱めるような選択圧が働いており、一部のATL細胞ではTax蛋白質が産生できない構造となっていることがわかる。特記すべきことは tax 遺伝子に遺伝的变化を有するATL細胞では5例中4例で転写が認められたことである。これはTax蛋白質を産生できないmRNAの場合には選択圧が働かず転写が持続していることを示している。

HTLV-1感染からATL発症に至る経過は図3のように考えることができる。感染後、HTLV-1は主にTaxの作用によりその感染細胞のクローナルな増殖を起こす。しかし、Tax蛋白質は細胞傷害性Tリンパ球の標的となるという性質を有するために感染細胞の増殖は抑えられる。そうして約60年という長い経過の後に、一部のキャリアで感染細胞は、がん化を起こしATLを発症する。この段階では、しばしばTaxは産生されないようになっている。すなわちTaxの作用がな

くとも ATL という悪性形質は維持されており、これは潜伏期間にゲノムの変化が蓄積し Tax なしでも“がん”という状態を維持できるためと考えられる。

Ⅲ. HTLV-1 プロウイルスの DNA メチル化

5'-LTR が完全にメチル化されるとウイルス遺伝子の転写は抑制されるが、それは生体内で、どのように起こっているであろうか？プロウイルス内部の DNA メチル化を調べてみると pol, env などの内部領域からメチル化が起こり、その DNA メチル化が徐々に 5', 3' 側へ波及して行くことが明らかとなった。5' 側へのメチル化が 5'-LTR に達し、ほぼ完全にメチル化されるとウイルス遺伝子の転写が抑制される。キャリアをみてみると 5'-LTR に DNA メチル化が検出されたのは 20% であったのに対して ATL では約半数のケースで DNA メチル化が見つかり、かつメチル化の程度も強いものであった。このことから以下のような仮説が考えられる。すなわち感染後、Tax の作用により HTLV-1 感染細胞のクローナル増殖が誘導されるが、Tax は細胞傷害性 T リンパ球の標的であり、発現細胞は排除される方向に働く。このため DNA メチル化によりその転写を抑制しようとする選択圧が働くが Tax が完全に発現しないようになると感染細胞の増殖自体が成立しない可能性がある。そこでキャリアの段階では Tax 発現と細胞性免疫のバランスの上に成り立っているが、腫瘍細胞ではゲノム変異が蓄積し Tax がなくとも細胞が増殖できる環境になっているものと予測される。このような細胞では増殖性を獲得しているために Tax がない方が有利な状況にある細胞も存在し tax 遺伝子に変異を起こした細胞、あるいは 5'-LTR が完全にメチル化された細胞が選択されてくるのであろう。そうするとゲノムの変化にはどのようなものがあるだろうか？プロウイルスの転写を抑制するよう

作用した DNA メチル化が細胞側遺伝子にも作用している可能性も高いと予測される。

Ⅳ. DNA メチル化とがん

DNA 自体の変異・欠失など遺伝的な変化 (genetic change) に対して DNA メチル化やヒストン修飾によるものは後成的変化 (epigenetic change) と呼ばれる。DNA メチル化は脊椎動物では CpG ジヌクレオチドのシトシンがメチル化される。このメチル化 DNA にはメチル化 CpG 結合蛋白質が結合しヒストン高次構造の変化から、その遺伝子の転写を抑制することが知られている。このような DNA メチル化は発生、ゲノムインプリンティング、発がんにおいて重要な役割をしている。がんでは多くの癌抑制遺伝子が DNA メチル化を受け、その転写が抑制されていることが知られている。例えば細胞周期抑制因子である p16 遺伝子は欠失に加えて DNA メチル化により多くの癌でその転写が抑制されている。われわれは ATL 細胞において DNA メチル化が p16 遺伝子の転写抑制を起こすことを報告した⁷⁾。また正常ではメチル化されている遺伝子が異所性に発現し低メチル化と関連していることも報告されている。

Ⅴ. ATL 発症におけるメチル化の意義

ATL での DNA メチル化の意義を明らかにするために正常 T リンパ球、HTLV-1 感染 T リンパ球と比較して ATL 細胞で DNA メチル化のパターンに変化がある DNA 領域を単離した。まず ATL 細胞で低メチル化されている DNA 領域を単離したところ、MEL1, CACNA1H, Nogo receptor という遺伝子をコードする領域が得られた⁸⁾。このうち、CACNA1H, と Nogo receptor は一部の ATL 細胞株で発現しているのみであったが、MEL1 はすべての ATL 細胞株で発現していた。また、ATL 細胞では確かに低メチル化になっ

ていることが確認された。MEL1はt(1;3)(p36;q21)を有する急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群で発現していることが報告されており腫瘍細胞で発現しているのは全長のMEL1ではなく、PRドメインを欠くMEL1Sである。ATLで調べてみると、やはり発現しているのはMEL1Sであり発がんとの関連が示唆された。PRドメインはSETドメインと相似性があり、SETドメインがヒストンメチル化に関与することからPRドメインもヒストンの修飾により遺伝子発現を修飾していることが予測される。PRドメインを有する遺伝子にはさまざまなものがあるが、MDS1/EVI1もそのメンバーで3q26に関連する染色体転座、マウス白血病ウイルスの挿入によりPRドメインを欠くEVI1の発現が白血病と関与している。RIZ1もPRドメインを有し大腸がん、乳癌では、やはりPRドメインを欠くRIZ2が発現している。このようにPRドメインを欠く alternative splicing formが発現することが発がんに関与していることが明らかとなっている。EVI1の発現はTGF- β に対する抵抗性を与えることが報告されており、その類似性からMEL1Sの作用を検討してみた。マウスT細胞株であるCTLL-2にMEL1(PRドメイン有)を発現させるとTGF- β に対する感受性が上昇したが、MEL1S(PRドメイン無)を導入した細胞では抵抗性になっていた。すなわち、MEL1S遺伝子の発現はTGF- β に対する抵抗性に関与しているものと考えられる。TaxはTGF- β に対する抵抗性を感染細胞に賦与することが報告されているが、上記のようにATL細胞においてTaxを最早、産生できないものも多い。このような場合、MEL1S遺伝子の低メチル化による異所性発現はTGF- β に対する抵抗性の機序を説明しうるものと考えられる。

では高メチル化はどうであろうか？ATL細胞で高メチル化されている遺伝子を同定した。この中でEGR3遺伝子はメチル化で発現が抑制されており、脱メチル化により発現が回復することからDNAメチル化により発現抑制されていたことが

わかる。このEGR3はFasリガンドの発現に必須の転写因子である。正常Tリンパ球では抗原刺激によりFas抗原の発現が亢進するとともにFasリガンドの発現が誘導されて自身のFas抗原に結合し、アポトーシスを誘導する。生体は、この機序(activation induced cell death)により過剰な免疫反応、細胞増殖を抑制している。ところがATL細胞は活性化された形質を有しFas抗原を表面に高発現しているが、Fasリガンドは全く発現していない。したがって、Fas-Fasリガンド系を介してアポトーシスも起こっていない。EGR3遺伝子のDNAメチル化による発現抑制は、ATL細胞でFasリガンドが産生されないという現象を説明しうるものと考えられる。この発現抑制によりATL細胞はアポトーシスを回避している。実際、EGR3遺伝子を強制的にATL細胞に発現させるとFasリガンドが誘導されアポトーシスが起る。

では、このようなメチル化の異常はどのような機序によって起こるのであろうか？HTLV-1感染細胞は正常細胞と比較してきわめて長い寿命を有しておりDNAメチル化で感染細胞の生存に有利な細胞群が“選択”されていくと考えることもできるであろう。この場合、ATLへと向かう“がん化”という過程は適者生存という進化の原則に則って進んで行くのであろう。すなわち、細胞の生存に重要ではあるが、免疫系のターゲットになるTaxはHTLV-1プロウイルスのメチル化という過程によって次第に発現が抑制され、またTaxはTGF- β への抵抗性を与えているが、Taxが失われていくとMEL1S遺伝子の発現により抵抗性を再び獲得し、Fas抗原からのアポトーシスシグナルが入らないようにFasリガンドの発現に必須なEGR3遺伝子がメチル化されている細胞が選択されるという訳である。今回、紹介した遺伝子はATLの発がん機構を説明する一部であり、さらに多くの遺伝子群がDNAメチル化の変化により、その発現を変化させているのであろう。

おわりに

HTLV-1の感染から ATL の発症へ至る過程は Tax 研究から多くのことが明らかとなったが、依然として多くの謎が残されていた。今後は

DNA メチル化というエピジェネティックなゲノム変化の解析や DNA チップテクノロジーの進展により未解明の局面が明らかにされることであろう。このような研究が依然として予後不良である ATL の治療法開発へと繋がることを切に希望したい。

文 献

- 1) Matsuoka M : Human T-cell leukemia virus type I and adult T-cell leukemia. *Oncogene* 22 : 5131-5140, 2003.
- 2) Manel N, Kim FJ, Kinet S, et al : The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. *Cell* 115 : 449-459, 2003.
- 3) Igakura T, Stinchcombe JC, Goon PK, et al : Spread of HTLV-1 between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science* 299 : 1713-1716, 2003.
- 4) Yoshida M : Multiple viral strategies of htlv-1 for dysregulation of cell growth control. *Annu Rev Immunol* 19 : 475-496, 2001.
- 5) Takeda S, Maeda M, Morikawa S, et al : Genetic and epigenetic inactivation of tax gene in adult T-cell leukemia cells. *Int J Cancer* 109 : 559-567, 2004.
- 6) Tamiya S, Matsuoka M, Etoh K, et al : Two types of defective human T-lymphotropic virus type I (HTLV-1) provirus in adult T cell leukemia. *Blood* 88 : 3065-3073, 1996.
- 7) Nosaka K, Maeda M, Tamiya S, et al : Increasing Methylation of the CDKN2A Gene is Associated with the Progression of Adult T-Cell Leukemia. *Cancer Res* 60 : 1043-1048, 2000.
- 8) Yoshida M, Nosaka K, Yasunaga J-I, et al : Aberrant expression of the *MELIS* gene identified in association with hypomethylation in adult T-cell leukemia cells. *Blood* 103 : 2753-2760, 2004.

1. 病因

3) 成人T細胞白血病とDNAメチル化

松岡 雅雄*
Matsuoka Masao

*京都大学ウイルス研究所感染免疫研究領域 教授

Summary ヒトT細胞白血病ウイルスI型 (HTLV-I) の感染から約60年という長い潜伏期間の後に一部のキャリアは成人T細胞白血病 (ATL) を発症する。HTLV-I は生体内でTaxを始めとするウイルス蛋白質の働きにより感染細胞のクローナルな増殖を起こし、その遺伝情報を増やす戦略を取っている。しかし、ウイルス抗原発現は同時に宿主免疫系からの攻撃を招くためにウイルス抗原の発現を抑える機序も働く。このような経過の中でゲノムDNAに遺伝的 (genetic) または後生的 (epigenetic) な変化の蓄積により発がんに至ると考えられる。我々はDNAメチル化という epigenetic な変化がATLの発がんにおいて重要な役割を果たしていることを明らかにしている。

はじめに

1977年に独立した疾患概念として確立された成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) は、その原因ウイルスであるヒトT細胞白血病ウイルスI型 (human T cell leukemia virus type I: HTLV-I) の発見により、その病態、疫学が理解が一挙に進んだ。HTLV-IのコードするTaxの解析を中心に発がん機構の解析は進み、その巧妙な働きが明らかになったが、何故ATLが起きるかという問いに対する答えは、未だ得られていない。ATLでは特異的な染色体転座はなく、

p53, p16の変異・欠失の頻度も高くない。我々はDNAメチル化というエピジェネティックな変化に着目し、ATLの発がん機構の解析を進めている¹⁾。本稿ではHTLV-I感染からATL発症に至る過程を分子生物学的に解説し、発がん過程におけるDNAメチル化に関して概説する。

1. HTLV-I感染からATL発症まで

現在、日本におけるATL発症平均年齢は約60才であり、母乳による垂直感染が主であると仮定すると感染から発症まで約60年という長い潜伏

《略語一覧》

ATL (adult T-cell leukemia; 成人T細胞白血病)

HTLV-I (human T cell leukemia virus type I; ヒトT細胞白血病ウイルスI型)

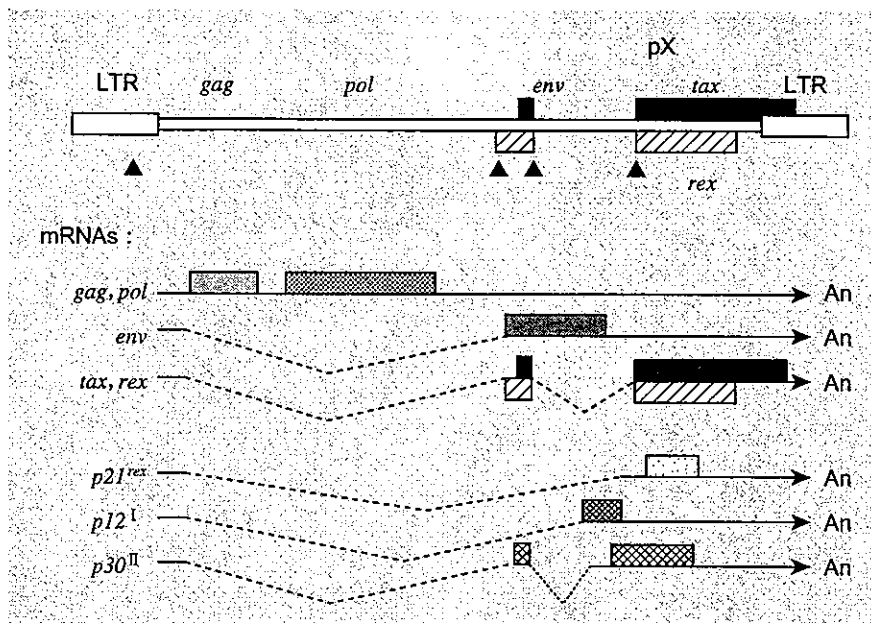


図1 HTLV-Iプロウイルスの構造とコードする遺伝子

HTLV-Iプロウイルスは、その両端にlong terminal repeat(LTR)、内部に *gag*, *pol*, *env* を有する。これ以外に *env* と 3'-LTR の間に pX 領域があり様々な調節遺伝子をコードしている。代表的な *tax*, *rex* に加えて *p21*, *p12*, *p30* などがありウイルスの複製、感染細胞の増殖に作用している。▲はスプライシングサイトを表している。

期間が存在することになる。そして発症率は男性で約6%、女性で2%と考えられている¹⁾。HTLV-Iは感染後、主にCD4陽性Tリンパ球のクローナルな増殖を起こし、このクローンは生体内で長期に渡って存在する。HTLV-Iは新規の感染も起こしていると考えられるが、感染細胞をクローナルに増殖させることによって、その遺伝情報の増幅を行っている。この場合、細胞側DNA複製酵素によって複製が起こるためにプロウイルスの“塩基の間違い”は少なく、このためHTLV-Iでは塩基配列の変異率が低いと考えられている。これは生体内で爆発的なウイルスの複製が起こり、間違いやすい(error-prone)逆転写酵素が複製に常に関与するために変異率が極めて多いヒト免疫不全ウイルス(human immunodeficiency virus: HIV)との大きな違いである。HIV

の場合は、この大きな変異が薬剤耐性の獲得、宿主免疫監視機構からの逃避の原因であり、その治療を困難なものにしている。

このようなHTLV-Iが遺伝情報を増幅させるために取った、感染細胞を増殖させるというストラテジーの副産物として“がん”すなわち、ATLが発生するものと理解される。感染細胞を増殖させるという戦略には何が重要であろうか? HTLV-Iは *gag*, *pol*, *env* といった外皮蛋白質、逆転写酵素などのウイルス構成蛋白質をコードする遺伝子以外にいくつかの調節遺伝子を有している。それは主に *env* と 3'-LTR の間に存在する pX 領域にコードされる *tax*, *rex*, *p12*, *p30*, *p21* などである(図1)。これらの中でも *tax* 遺伝子が感染細胞の増殖、発がんに中心的な役割を果たしていると考えられている。TaxはウイルスLTR(long

《略語一覧》

HIV (human immunodeficiency virus; ヒト免疫不全ウイルス)

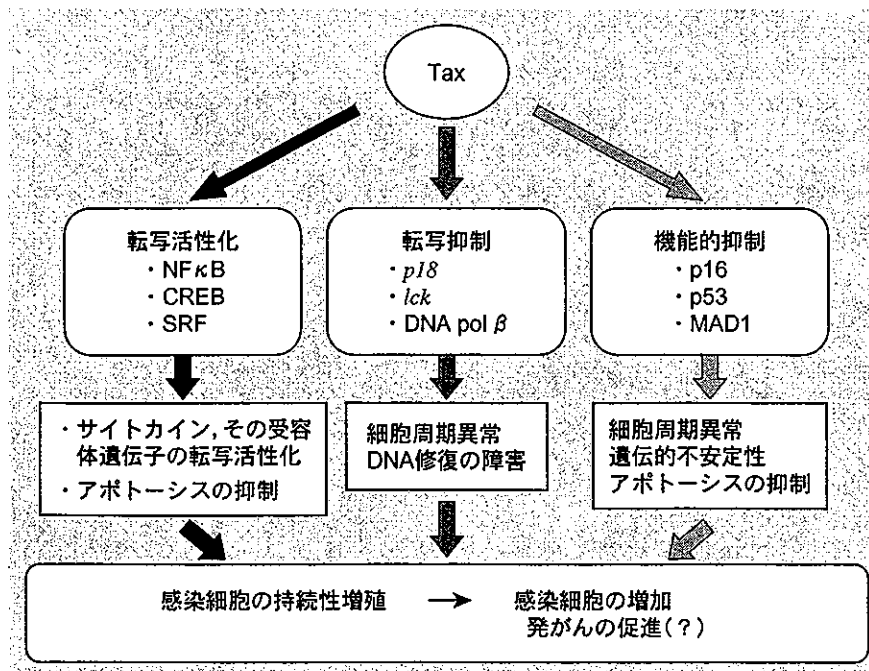


図2 Taxの多面的作用

Taxは転写因子経路の活性化, または転写抑制, さらには p53, p16, MAD1などの機能的抑制により感染細胞の持続性増殖を誘導し, アポトーシスを阻止する。このような作用により感染細胞数を増やし, そのコピー数を増加させると共に p53の機能障害やDNAポリメラーゼβの抑制は遺伝的不安定性の増加に繋がる。

terminal repeat) に作用してウイルス遺伝子の転写を亢進するだけでなく細胞側因子と相互作用して細胞機能の変化を誘導することが知られている。その変化とは以下のようなものである (図2)。

① 転写経路の活性化: nuclear factor-κB (NF-κB), cyclic AMP response element binding protein (CREB), serum responsive factor (SRF) 等の転写経路を活性化し様々な増殖因子, 受容体, アポトーシス関連遺伝子の転写を活性化する。NF-κBの活性化は *Bcl-xL* などのアポトーシス抵抗性遺伝子の転写活性化によりアポトーシスを阻害する。

② 転写抑制: *p18*, *lck*, DNAポリメラーゼβ遺伝子の転写を抑制する。

③ 機能的

抑制: p53, p16, MAD1などの作用を抑制する。p53の抑制はアポトーシス回避につながる。これらの作用によってTaxは感染細胞の増殖を促しアポトーシスを抑制し感染細胞の増加をもたらしているものと考えられる。同時にp53の機能障害やDNAポリメラーゼβの抑制は遺伝的不安定性の増加に直結しATLの発症に関連している。

2. ATL細胞におけるtax遺伝子不活化機構

HTLV-Iでトランスフォームした細胞株ではTaxを含むウイルス抗原が発現しているが, 新鮮

《略語一覧》

LTR (long terminal repeat)	NF-κB (nuclear factor-κB)
CREB (cyclic AMP response element binding protein)	SRF (serum responsive factor)

ATL細胞での *tax* 遺伝子の発現は明らかではない。HTLV-1 関連細胞株には患者由来の ATL 細胞と同じクローンのも(すなわち腫瘍細胞由来)と別のクローンのも(非腫瘍細胞由来)がある。腫瘍細胞由来の細胞株は生体内での ATL 細胞の性格を反映していると考えられる。腫瘍細胞由来の ATL 細胞株を 5 株、調べたところ、3 株で Tax の発現が認められなかった²⁾。それらの細胞株で *tax* 遺伝子を解析したところ 1 株では *tax* 遺伝子の splicing acceptor を含む領域の欠失、1 株では *tax* 遺伝子に non-sense 変異があり Tax 蛋白質を最早、産生できない構造となっていた。もう一株では *tax* 遺伝子の構造異常はないが 5'側 LTR が高度に DNA メチル化されており、脱メチル化を起こす 5-aza-deoxy-cytidine の処理により発現が回復した。5'-LTR はウイルス遺伝子のプロモーター・エンハンサーであり、その DNA メチル化がウイルス遺伝子の転写を抑制したものと考えられる。このことから *tax* 遺伝子の変異・欠失、5'-LTR のメチル化が Tax 産生を抑制するメカニズムとして浮かび上がってきた^{2, 3)}。そこで ATL 患者からの腫瘍細胞を 47 例で解析してみると 5 例で *tax* 遺伝子の変異・欠失・挿入といった遺伝的变化を認めた。一方、5'-LTR のメチル化は半数以上の例で認めたものの多くは部分的な DNA メチル化であり、ほぼ完全なメチル化は 4 例に認めたのみであった。細胞株の解析から部分的な DNA メチル化はウイルス遺伝子の転写を抑制しないことが明らかになっており、DNA メチル化によるウイルス遺伝子転写の抑制の頻度は高くないことが示された。欠損型プロウイルスの内、2 型欠損型は 5'-LTR とプロウイルス内部の配列に欠失がある⁴⁾。これらのプロウイルスでは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'-LTR を欠くために転写効率が低下すると考えられる。この 2 型欠損型プロウイルスは 28% の症例で認められた。以上を総合すると 47 例中、遺伝的变化で

Tax を最早、産生できないものが 11%、DNA メチル化によりウイルス遺伝子の転写が抑制されているものが 9%、2 型欠損型プロウイルスが 28% であった。2 型欠損型プロウイルスは *env* 付近に存在する内部プロモーターで転写が起こるか、細胞側遺伝子のプロモーターをトラップしている可能性があるため、転写抑制があるか必ずしも明白ではないが、この結果から ATL では Tax の発現を弱めるような選択圧が働いており、一部の ATL 細胞では Tax 蛋白質が産生できない構造となっていることがわかる。さらに *tax* 遺伝子の転写を調べると 41 例中 14 例で認められ、特記すべきことは *tax* 遺伝子に遺伝的变化を有する ATL 細胞では 5 例中 4 例で転写が認められたことである。これは Tax 蛋白質を産生できない mRNA の場合には選択圧が働かず転写が持続していることを示している。

HTLV-1 感染から ATL 発症に至る経過は図 3 のように考えることが出来る。感染後、HTLV-1 は主に Tax の作用によりその感染細胞のクローナルな増殖を起こす。しかし、Tax 蛋白質は細胞傷害性 T リンパ球の標的となるという性質を有するために感染細胞の増殖は抑えられる。そうして約 60 年という長い経過の後に、一部のキャリアで感染細胞は、がん化を起こし ATL を発症する。この段階では、しばしば Tax は産生されないようになっている。すなわち Tax の作用がなくとも ATL という悪性形質は維持されており、これは潜伏期間にゲノムの変化が蓄積し Tax なしでも“がん”という状態を維持できるためと考えられる。

3. HTLV-1 プロウイルスの DNA メチル化

5'-LTR が完全にメチル化されるとウイルス遺伝子の転写は抑制されるが、それは生体内で、どのように起こっているであろうか？ プロウイル

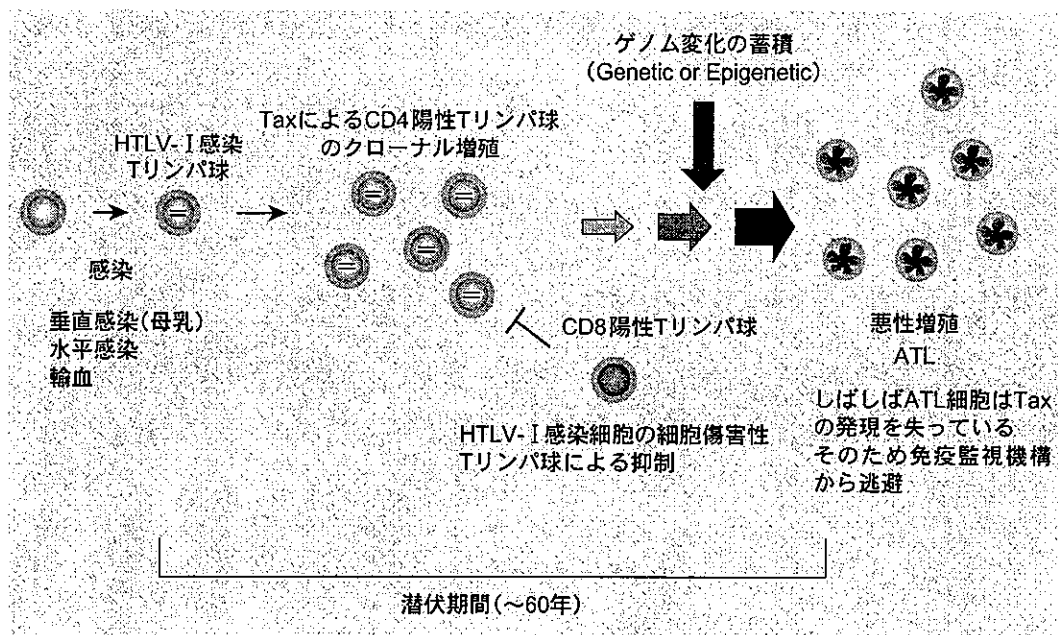


図3 HTLV-I 感染からATLの発症へ至る自然経過
HTLV-I の感染からATL発症に至る経過を示す。

ス内部のDNAメチル化を調べてみると *pol*, *env* などの内部領域からメチル化が起こり、そのDNAメチル化が徐々に5', 3'側へ波及して行くことが明らかとなった。5'側へのメチル化が5'-LTRに達し、ほぼ完全にメチル化されるとウイルス遺伝子の転写が抑制される。キャリアをみると5'-LTRにDNAメチル化が検出されたのは20%であったのに対してATLでは約半数のケースでDNAメチル化が見つかり、かつメチル化の程度も強いものであった。このことから以下のような仮説が考えられる。すなわち感染後、Taxの作用によりHTLV-I感染細胞のクローナル増殖が誘導されるが、Taxは細胞傷害性Tリンパ球の標的であり、発現細胞は排除される方向に働く。このためDNAメチル化によりその転写を抑制しようとする選択圧が働くがTaxが完全に発現しないようになると感染細胞の増殖自体が成立しない可能性がある。そこでキャリアの段階ではTax発現と細胞性免疫のバランスの上に成り

立っているが、腫瘍細胞ではゲノム変異が蓄積しTaxがなくとも細胞が増殖できる環境になっているものと予測される。このような細胞では増殖性を獲得しているためにTaxがない方が有利な状況にある細胞も存在し *tax* 遺伝子に変異を起こした細胞、あるいは5'-LTRが完全にメチル化された細胞が選択されてくるのであろう。そうするとゲノムの変化にはどのようなものがあるだろうか？プロウイルスの転写を抑制するように作用したDNAメチル化が細胞側遺伝子にも作用している可能性も高いと予測される。

4. DNAメチル化とがん

DNA自体の変異・欠失など遺伝的な変化 (genetic change) に対してDNAメチル化やヒストン修飾によるものは後生的変化 (epigenetic change) と呼ばれる。DNAメチル化は脊椎動物ではCpGジヌクレオチドのシトシンがメチル化

される。このメチル化DNAにはメチル化CpG結合蛋白質が結合しヒストン高次構造の変化から、その遺伝子の転写を抑制することが知られている。このようなDNAメチル化は発生、ゲノムインプリンティング、発がんにおいて重要な役割をしている。がんでは多くの癌抑制遺伝子がDNAメチル化を受け、その転写が抑制されていることが知られている。例えば細胞周期抑制因子である*p16*遺伝子は欠失に加えてDNAメチル化により多くの癌でその転写が抑制されている。我々はATL細胞においてDNAメチル化が*p16*遺伝子の転写抑制を起こすことを報告した⁵⁾。

5. ATL発症におけるメチル化の意義

ATLでのDNAメチル化の意義を明らかにするために正常Tリンパ球、HTLV-I感染Tリンパ球と比較してATL細胞でDNAメチル化のパターンに変化があるDNA領域を単離した。方法としてはmethylated CpG-island amplification/representational difference analysis (MCA/RDA)法を用いた⁶⁾。この方法では同じ塩基配列(CCCGGG)を認識するSma I, Xma Iという2種類の制限酵素を用いている。Sma Iはメチル化されたCCCGGGは切断できないが、Xma Iはメチル化されたCCCGGGも切断し、粘着断端を生じる。これにアダプターを結合させるとメチル化されているCCCGGGにのみ結合することになる。このアダプターにプライマーを設定しポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction: PCR)を行うとメチル化されているDNA領域のみが増幅されてくる。次にATL細胞とHTLV-I

感染細胞から増幅したMCA産物を用いて両者の違いをRDA法により引き算する。ATL細胞から感染細胞を引くとATL細胞で高メチル化されているDNA領域が取れ、感染細胞からATLを引くと感染細胞でメチル化の程度が高い、すなわちATL細胞で低メチル化されているDNA領域の同定が可能である。

まずATL細胞で低メチル化されているDNA領域を単離したところ、*MEL1*, *CACNA1H*, *Nogo receptor*という遺伝子をコードする領域が得られた⁷⁾。この内、*CACNA1H*と*Nogo receptor*は一部のATL細胞株で発現しているのみであったが、*MEL1*は全てのATL細胞株で発現していた。またATL細胞では確かに低メチル化になっていることが確認された。*MEL1*はt(1;3)(p36;q21)を有する急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群で発現していることが報告されていた。急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia: AML)、骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS)で発現しているのは全長の*MEL1*ではなく、PRドメインを欠く*MELIS*である(図4)。ATLで調べてみると、やはり発現しているのは*MELIS*であり発がんとの関連が示唆された。PR(PRDI-BF1 and RIZ1 homology)ドメインはSET(SU(VAR)3-9, E(Z), trithorax)ドメインと相似性があり、SETドメインがヒストンメチル化に関与することからPRドメインもヒストンの修飾により遺伝子発現を修飾していることが予測される。*MELIS*はインターロイキン(interleukin: IL)-3依存性マウス骨髄性白血病細胞株に導入すると分化を抑制することから骨髄性白血病では分化のブロックにより発がんに関与していることが示されている。

《略語一覧》

MCA/RDA (methylated CpG-island amplification/representational difference analysis)

PCR (polymerase chain reaction; ポリメラーゼ連鎖反応)

MDS (myelodysplastic syndrome; 骨髄異形成症候群)

SET (SU (VAR) 3-9, E (Z), trithorax)

AML (acute myeloid leukemia; 急性骨髄性白血病)

PR (PRDI-BF1 and RIZ1 homology)

IL (interleukin; インターロイキン)

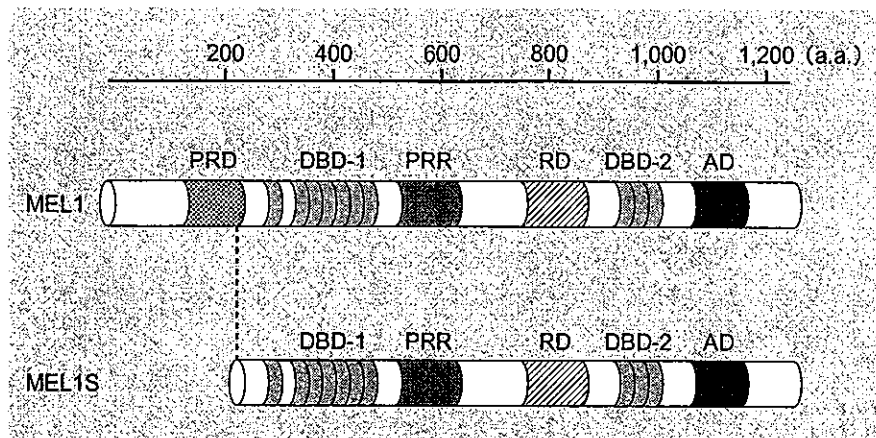


図4 MEL1, MEL1Sの構造

MEL1SはMEL1に存在するPRドメインを欠いている。

PRD: PR domain, DBD: DNA binding domain, PRR: proline-rich domain, RD: repressor domain, AD: acidic domain.

PRドメインを有する遺伝子には様々なものがあるが、*MDS1/EV11*もそのメンバーで3q26に関連する染色体転座、マウス白血病ウイルスの挿入によりPRドメインを欠く*EV11*の発現が白血病と関与している。*RIZ1*もPRドメインを有し大腸がん、乳癌では、やはりPRドメインを欠く*RIZ2*が発現している。このようにPRドメインを欠く alternative splicing formが発現することが発がんに関与していることが示されている。*EV11*の発現はtransforming growth factor (TGF)- β に対する抵抗性を与えることが報告されており、その類似性から*MEL1S*の作用を検討してみた。マウスT細胞株であるCTLL-2に*MEL1*(PRドメイン有)を発現させるとTGF- β に対する感受性が上昇したが、*MEL1S*(PRドメイン無)を導入した細胞では抵抗性になっていた。すなわち*MEL1S*遺伝子の発現はTGF- β に対する抵抗性に関与しているものと考えられる。TaxはTGF- β に対する抵抗性を感染細胞に賦与することが報告されているが、上記のようにATL細胞においてTaxを最早、

産生できないものも多い。このような場合、*MEL1S*遺伝子の低メチル化による異所性発現はTGF- β に対する抵抗性の機序を説明しうるものと考えられる。

では高メチル化はどうであろうか？ MCA/RDA法によりATL細胞で高メチル化されているDNA領域を同定した。この中で*EGR3*(early growth response 3)遺伝子はメチル化で発現が抑制されており、脱メチル化により発現が回復することからDNAメチル化により発現抑制されていたことがわかる。この*EGR3*はFasリガンドの発現に必須の転写因子である。正常Tリンパ球では抗原刺激によりFas抗原の発現が亢進するとともにFasリガンドの発現が誘導されて自身のFas抗原に結合し、アポトーシスを誘導する。生体は、この機序(activation induced cell death)により過剰な免疫反応、細胞増殖を抑制している。ところがATL細胞は活性化された形質を有しFas抗原を表面に高発現しているが、Fasリガンドは全く発現していない。従ってFas-Fasリガンド系を

《略語一覧》

TGF (transforming growth factor)

EGR3 (early growth response 3)

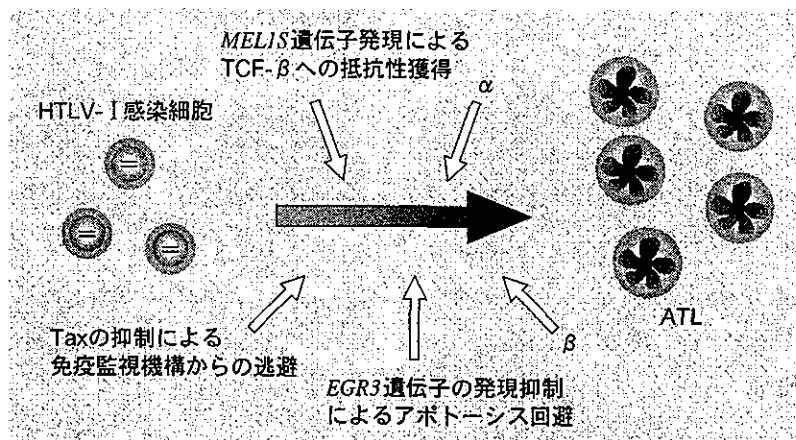


図5 ゲノムに蓄積するDNAメチル化による変化

本稿で示したDNAメチル化の異常による変化を示している。今後、解析を進めれば低メチル化により活性化される遺伝子(α)や高メチル化により抑制される遺伝子(β)が発見され発がん機構がさらに明らかになると期待される。

介してアポトーシスも起こっていない。EGR3 遺伝子のDNAメチル化による発現抑制は、このFasリガンドが産生されないという現象を説明するものと考えられる。この発現抑制によりATL細胞はアポトーシスを回避している。実際、EGR3 遺伝子を強制的にATL細胞に発現させるとFasリガンドが誘導されアポトーシスが起る。

では、このようなメチル化の異常はどのような機序によって起こるのであろうか？ HTLV-I 感染細胞は正常細胞と比較して極めて長い寿命を有しておりDNAメチル化で感染細胞の生存に有利な細胞群が“選択”されていくと考えることもできるであろう。この場合、ATLへと向かう“がん化”という過程は適者生存という進化の原則に則って進んで行くのであろう。すなわち、細胞の生存に重要ではあるが、免疫系のターゲットになるTaxはHTLV-Iプロウイルスのメチル化という過程によって次第に発現が抑制され、またTaxはTGF-βへの抵抗性を与えているが、Taxが失われていくとMELIS 遺伝子の発現により抵抗性を再び獲得し、Fas抗原からのアポトーシスシグ

ナルが入らないようにFasリガンドの発現に必要なEGR3 遺伝子がメチル化されている細胞が選択されるという訳である(図5)。今回、紹介した遺伝子はATLの発がん機構を説明する一部であり、更に多くの遺伝子群がDNAメチル化の変化により、その発現を変化させているのであろう。

おわりに

HTLV-Iの感染からATLの発症へ至る過程はTax研究から多くのことが明らかとなったが、依然として多くの謎が残されていた。今後はDNAメチル化というエピジェネティックなゲノム変化の解析やDNAチップテクノロジーの進展により未解明の局面が明らかにされることであろう。このような研究が依然として予後不良であるATLの治療法開発へと繋がることを切に希望したい。

文献

- 1) Matsuoka M: Human T-cell leukemia virus type I and adult T-cell leukemia. *Oncogene* 22:5131-

- 5140, 2003
- 2) Takeda S, Maeda M, Morikawa S, et al : Genetic and epigenetic inactivation of tax gene in adult T-cell leukemia cells. *Int J Cancer* (in press).
 - 3) Koiwa T, Hamano-Usami A, Ishida T, et al : 5'-long terminal repeat-selective CpG methylation of latent human T-cell leukemia virus type 1 provirus *in vitro* and *in vivo*. *J Virol* 76 : 9389-9397, 2002
 - 4) Tamiya S, Matsuoka M, Etoh K, et al : Two types of defective human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) provirus in adult T cell leukemia. *Blood* 88 : 3065-3073, 1996
 - 5) Nosaka K, Maeda M, Tamiya S, et al : Increasing Methylation of the CDKN2A Gene is Associated with the Progression of Adult T-Cell Leukemia. *Cancer Res* 60 : 1043-1048, 2000
 - 6) Toyota M, Ho C, Ahuja N, et al : Identification of differentially methylated sequences in colorectal cancer by methylated CpG island amplification. *Cancer Res* 59 : 2307-2312, 1999
 - 7) Yoshida M, Nosaka K, Yasunaga J-I, Morishita K, Nishikata I, Matsuoka M : Aberrant expression of the MEL1S gene identified in association with hypomethylation in adult T-cell leukemia cells. *Blood* (in press).