

胞の腫瘍化を示すものではなく、腫瘍化過程で獲得された形質の一つにすぎないと考えるのが妥当であろう。

(4)ATL細胞のクローナリティ

ATL細胞をサザンブロット法で解析するとHTLV-1のモノクローナルな組み込みが検出されることから、一般に「HTLV-1感染細胞が腫瘍化してモノクローナルに増殖したもの」と考えられる。複数のプロウイルスバンドが検出された場合でも、TCRのrearrangementの解析や定量的PCRによる細胞当たりのコピー数の検討から、モノクローナルなATL細胞に複数のプロウイルスが組み込まれていることが証明されている。しかし、症例報告等を調べてみると、実際には同一個体に同時あるいは経時的に複数のATLクローンが検出された以下のような例がある。①CD4⁺CD8⁻とCD4⁻CD8⁺の2つのクローンが認められた慢性型ATL¹⁰⁾、②独立の2個の腫瘍クローンが末梢血とリンパ節で認められた例¹¹⁾¹²⁾、③自然緩解後に異なったクローンによって再発した例¹³⁾、④5個の異なったクローンが認められる巨大な皮膚腫瘍を呈した例¹⁴⁾等である。これらの報告は、生体内においては複数のクローンが多段階がんのプロセスをたどり、ある時点では、同時に2つ以上のクローンが腫瘍細胞として共存しうること示す例であると考えられる。このような考えを支持する報告としては、複数の患者で慢性期とCrisisの際のATL細胞で異なったクローンが出現していること¹²⁾、IL-2依存性のcolony forming assayによるキャリアーの末梢血の解析では、ATL発症前の時期でも多数のコロニー形成能を持つクローンが認められることなどが挙げられる¹⁵⁾。最近のSetoらの報告では、ATL細胞がリンパ節内でprogressionして末梢血に出現することを示唆している¹⁶⁾。したがって、生体内では、多段階のステップを種々のレベルまでたどったいくつかのクローンがオリゴクローナルに存在しており、そのうちの1あるいは数個のクローンが急速に増殖を示して顕在化したものが、臨床的に認知されるATLであり、さらに、腫瘍化後もリンパ節においてclonal progressionを継続していると考えるのが妥当であると思われる。

2. 組み込まれたプロウイルスの状態

ATL細胞に組み込まれたプロウイルスDNAの解析から、欠損型のプロウイルスを持つ症例の割合が約26%であり、5'側のgag-pol領域の欠失がみられ、5'LTRを保存する例と欠損している例の2種が存在することが知られている。また、欠損プロウイルスは急性型に多い傾向があること、2コピー以上のプロウイルスが組み込まれている例が約18%あることが報告されている¹⁷⁾。さらに、ATL細胞のプロウイルスの5'LTR(ウイルスの遺伝子発現のプロモーター領域)が選択的にはほぼ完全にCpGメチル化されている¹⁸⁾。さらに、TaxのORFに高頻度に塩基配列の変異が認められている¹⁹⁾。これらの結果は、ATL細胞ではDNAメチル化、ゲノムの欠損またはTaxの変異によってウイルスがshut-offされていることを示すものである。しかし、プロウイルスゲノムの3'側に位置するenv-pX-LTR領域が全例で保存されていることから、3'LTRから転写されるアンチセンス転写産物HBZの機能に注目が集まっている²⁰⁾。

3. ATL細胞の分子生物学的特徴：遺伝子発現解析

ATL細胞の遺伝子発現解析の結果が報告されているが、その内容は、感染細胞株を対象にしたものと新鮮ATL細胞を解析したものに分かれる。in vitroで培養された細胞株を用いたデータの意義づけは限界があると考えられる。検体の解析も複数報告されているが、対象検体数が少ないため、一般性には限界があると考えられる。その中では、Morishitaらは8例のATL検体の解析から、ATL細胞ではTSLC1が過剰発現していることを見出し、この分子をバイオマーカーとした診断系の開発を進めている²¹⁾。

ATL細胞におけるmiRNAの発現解析を報告した論文は3報ある^{22)~24)}。これらの報告に用いられた検体の種類や数を表1にまとめた。

Yeungらの報告では、ATL細胞で過剰発現する6つのmiRNAを報告している。そのうちmiR-93とmiR-130bはTP53INP1を標的遺伝子とすることが示された。実際、TP53INP1の発現はATL細胞では低レベルであり、antagomirを用いて細胞を処理するとその発現は回復した。したがって、miR-93/miR-130b-TP53INP1 axisがHTLV-1で腫

表1 HTLV-1感染細胞株/ATL細胞のmicroRNAの解析を報告した論文

報告者	対象検体	検体数	対照検体	文献
Pichler K, et al.	細胞株	HTLV-1感染細胞株 12株	HTLV-1非感染T細胞株 3株	22)
Yeung ML, et al.	細胞株および末梢血ATL細胞	細胞株 7, ATL検体 4	正常末梢血単核球 3検体	23)
Bellon M	末梢血ATL細胞	ATL検体 7	正常末梢血単核球 3検体	24)

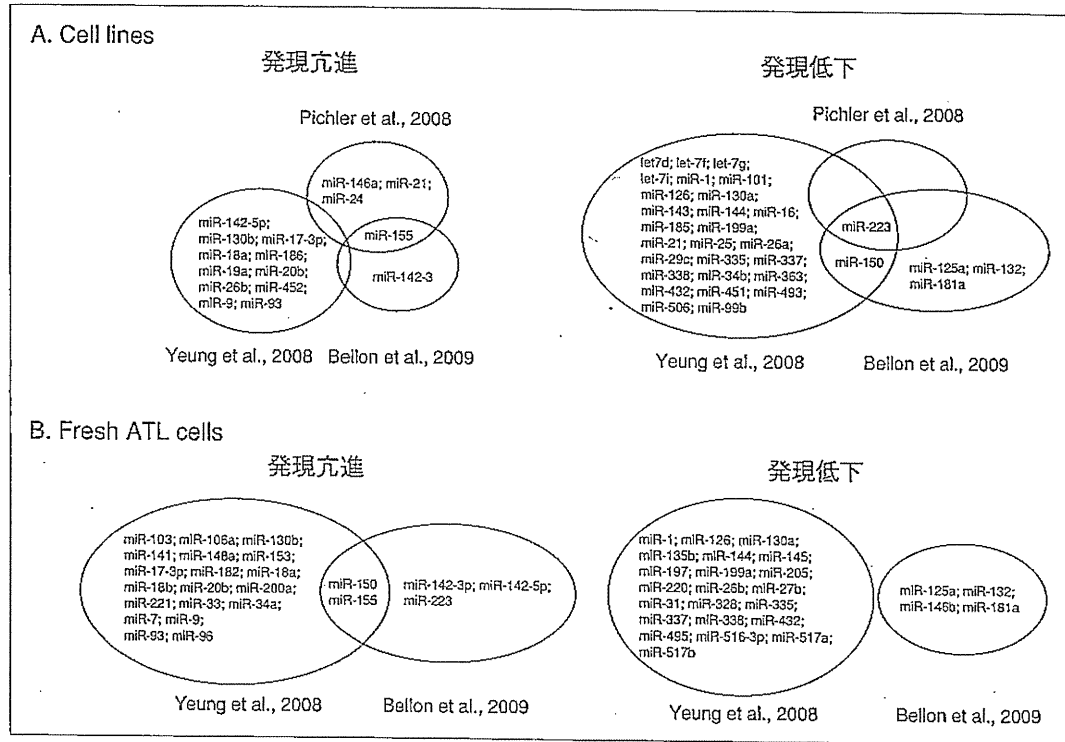


図3 microRNA発現解析のまとめ

- ・細胞株の解析では3つの報告で共通するものが少ない。特に過剰発現しているmiRNAでは再現性が少ない。
- ・新鮮ATL細胞でも2つの報告で共通するものが少ない。多くのがんでは発現低下するものが多いといわれているが、これらの報告ではその特徴は明らかではない。

瘍化した細胞の増殖や生存に影響している可能性があると報告している。Pichlerらは、HTLV-1で腫瘍化した細胞では、miR-21, miR-24, miR-146aおよびmiR-155が過剰発現していること、一方、miR-223の発現は抑制されていると報告している。また、miR-146aはTaxとNF- κ Bで発現が誘導されることも報告した。Bellonらは、ATL細胞やHTLV-1感染細胞ではmiR-223, miR-181a, miR-150, およびmiR-142.3pの発現に異常があり、これらはTリンパ球の分化にかかわるmicroRNAであると報告した。特に、miR-150とmiR-223はATL細胞では発現亢進が認められるにもかかわらず、細胞株では発現が低下していることを示し

た。

これらの論文で得られた結果をまとめて図3に示した。

ATLの治療の現状と課題

1. 治療の現状と基本の方針

(1) 化学療法

従来の多剤併用化学療法の臨床治験の試みと成績の取りまとめを表2に示した。現時点では、急性型、リンパ腫型およびハイリスクの慢性型ATLの治療の第一選択はLSG15(あるいはmodified LSG15)プロトコルであると考えられる。しかし、このような細胞毒性の強い治療法を適用で

表2 JCOG-LSGによるATLの臨床治験

名称	期間	プロトコール名	症例数	CR(%)	PR(%)	MST(月)	生存率(%)
JCOG 7801	1978~1980	LSG1(VEPA)	18	16.7	N/A	5	N/A
JCOG 8101	1981~1983	LSG1(VEPA) LSG2(VEPA-M)	24 30	16.7 36.7	N/A N/A	7.5	8.3(4年)
JCOG 8701	1987~1990	LSG4	43	41.9	N/A	8	12(4年) 15.5(2年)
JCOG 9109	1991~1993	LSG11	62	28.3	23.3	7.4	10.3(5年)
JCOG 9303	1994~1996	LSG15	96	35.5	45.2	13	31.3(2年)
JCOG 9801	1998~2003	mLSG15 mLSG19	57 61	40 25	32 41	12.7 10.9	24(3年) 13(3年)

CR : complete response, PR : partial response, MST : 生存期間中央値, N/A : not available

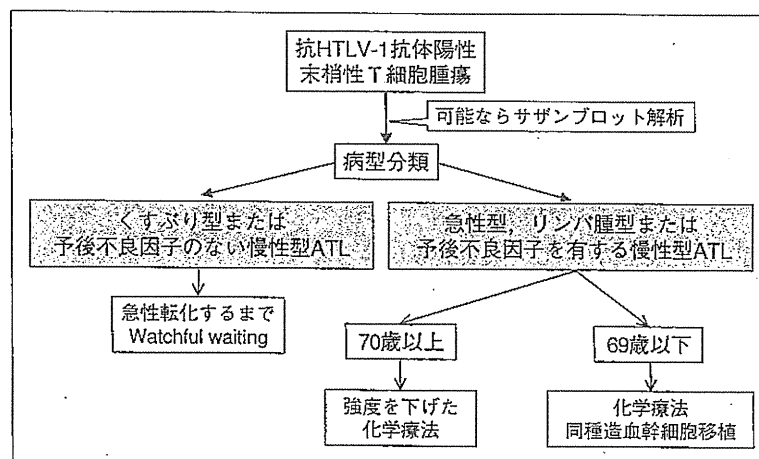


図4 ATLの診断と治療の流れ

きない患者が大多数であり、CHOP療法あるいは経口剤による対症療法で対処せざるを得ない例が多いのが実態である²⁵⁾。現在の診断と治療の流れを図4に示す。

2007年に箱根で開催された第13回「HTLV-1国際会議」での議論をもとに、ATLの治療法に関する国際的な合意の形成が長崎大学の塚崎らによって取りまとめられた²⁶⁾。

(2) 血液幹細胞移植療法(SCT)

現在も臨床治験が進められている。予後不良のATLに対して行われたSCTのこれまでの成績を総括すると、生存期間中央値は延長し、30~40%の例で長期生存が期待できるが、治療関連死が多いということになる。ATLのSCTにはいくつかの問題・制約があると考えられる。患者の年齢が高いことで、一般のSCTの適応が限られること、HTLV-1非感染donorが得られにくいことなどである。このような背景から、前処置を軽減

したreduced-intensity conditioning stem cell transplantation(RIST)が注目されており、その有効性に関する検討も進められている。また、臍帯血幹細胞移植(UCBT)の有効性に関してはまだ明確なエビデンスが得られていない。また、HLAが適合したdonorが得られない場合の、HLA-haploidentical donorからのallo-SCTも検討課題であると思われる²⁵⁾。

2. 新たな治療法の模索

既存の治療法の現状が上記のように満足できる状態ではないので、新たな治療法、特に化学療法剤の開発が求められている。現在検討されているさまざまな例の一部を以下で紹介する²⁵⁾(表3)。

(1) 化学療法

a. 抗ウイルス療法

Zidovudine(AZT)とinterferonを用いた治療成績が欧米のグループから報告されている。最近

表3 分子標的薬を含む治療法の検討例

経路/分子標的	薬物	作用
NF-κB経路	Bortezomib	Proteasome inhibitor
	Bay 11-7082	IKK inhibitor
	ACHP	IKK inhibitor
	DHMEQ	NF-κB nuclear transport inhibitor
AKT経路	IC87114, LY294002	PI3K inhibitor
	OSU-03012, OSU-03013	PDK1 inhibitor
	BX320, BX-912	PDK1 inhibitor
	Perifosine, PIA5, XL418	AKT inhibitor
HDAC	Curcumin	PDK1 inhibitor
	LBH589	HDAC inhibitor
	SAHA	HDAC inhibitor
CD25抗原	MS-275	HDAC inhibitor
	Anti-Tac-Mab	Mouse Mab, blocks IL-2/Receptor interaction
CD52抗原	Daclizumab	Humanized Mab, IL-2/Receptor interaction
	Alemtuzumab	Humanized Mab, Complement-Dependent Cytotoxicity
CD71抗原	A24	Mouse Mab against transferrin receptor

の報告では、急性型、慢性型およびくすぶり型に関しては完全寛解率が化学療法を上回ること、慢性型とくすぶり型では5年生存率が100%という結果になっている²⁷⁾。わが国では、平成22年度から塚崎らの班研究で臨床研究が開始された。

b. 亜ヒ酸

前骨髄球性白血病(APL)での有効性が知られている亜ヒ酸が、ATLに対しても有効との報告がある。亜ヒ酸+IFN-α+AZTでは慢性型ATL患者10例で、7例に完全寛解、3例で部分寛解という報告がある²⁸⁾。わが国での追試はまだ行われていない。

c. レチノイド

All-trans retinoic acid(ATRA)の報告では、20例中PRが8例であり、十分な有効性があるとはいえないが、亜ヒ酸との併用効果に関しては検討の余地がある。新たな合成レチノイドとして、NIK333やAm80に対しても検討がなされている。

d. NF-κB阻害剤

前臨床のデータとして、IKK阻害剤であるBay11-7082およびNF-κB核移行阻害薬DHMEQの報告がある。これらの臨床治験はまだ行われていない。

e. プロテアソーム阻害剤

BortezomibがNF-κBを阻害することが報告されており、非ホジキンリンパ腫の一部での有効性が報告されている。ATLに関してはin vitroおよびxenograftを用いて有効性が報告されている。

単独あるいは併用におけるATLに対する有効性を検証する臨床研究が望まれる。

f. HDAC阻害剤

一部の薬剤が皮膚型Tリンパ腫(CTCL)に有効であることが報告されている。in vitroの実験ではHTLV-1感染細胞株および新鮮ATL細胞に対しての有効性が確認されており、臨床治験による検証が必要である。

ほかにも、いくつかの臨床応用段階および前臨床段階の薬物が、ATLに対しても有効である可能性が示されている。基礎情報を十分に検討して、優先順位をつけた上で、これらの薬物の有効性についての臨床治験を進めることが望まれる。

(2) 抗体療法

現在、第II相の臨床治験が進んでいる脱フコシル化CCR4抗体(KW-0761)は、早期に承認されて、臨床現場での使用が可能になることが期待される²⁹⁾。ほかにも、CD25、CD2、CD52、CD30およびトランスフェリンレセプター(CD71)に対する単クローン抗体を用いた抗体療法が検討中であり、一部は臨床治験の段階にある。ただ、ATLに対しての有効性を検証する臨床治験が十分に行われていない。

おわりに

ATLはウイルス感染によって感染細胞そのもの

が腫瘍化する特異ながんである。したがって、最初にも述べたように、ATL研究の方向性も、ウイルス側と腫瘍細胞側の2方向からのアプローチが可能である。ポストゲノム時代になり、米国でのCancer Genome Anatomy Projectの前例をみるまでもなく、がんの発症機構の理解には、腫瘍細胞内に蓄積された遺伝子異常の実態と、発現する遺伝子の包括的把握が必須である。多くの研究者の真摯な努力の結果、個別の遺伝子異常解析の中からも有意義かつ示唆的な知見がまとめられてきたが、今後は、包括的なゲノム異常および遺伝子発現異常のデータベースを基盤とした知見を整理して、発症までに蓄積された腫瘍化にかかわる遺伝子異常の実体を解明する試みが可能になってきたと考えられる。治療法に関しては、画期的抗体療法の臨床応用が現実になりつつあるが、すでに検討されている多くの薬物に関してATLについての有効性を組織的に検証するとともに、新たな視点に基づく低分子化合物のスクリーニングも進める必要があると考える。これらの解析を通じて、腫瘍化を特徴づけるバイオマーカーの同定と、それに基づく早期診断、発症予防、および新たな分子標的治療法の開発が期待される。

文 献

- 1) 渡邊俊樹. HTLV-1の分子生物学：基礎と臨床をつなぐもの。渡邊俊樹，上平 憲，山口一成・編。HTLV-1と疾患。東京：文光堂；2007。pp.166-77.
- 2) 上平 憲. ATLの細胞生物学。渡邊俊樹，上平 憲，山口一成・編。HTLV-1と疾患。東京：文光堂；2007。pp.71-83.
- 3) Fukuda R, Hayashi A, Utsunomiya A, et al. Alteration of phosphatidylinositol 3-kinase cascade in the multilobulated nuclear formation of adult T cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 ; 102 : 15213.
- 4) Kamihira S, Sohma H, Atogami S, et al. Phenotypic diversity and prognosis of adult T-cell leukemia. *Leukemia Res* 1992 ; 16 : 435.
- 5) Tian Y, Kobayashi S, Ohno N, et al. Leukemic T cells are specifically enriched in a unique CD3(dim) CD7(low) subpopulation of CD4(+) T cells in acute-type adult T-cell leukemia. *Cancer Sci* 2011 ; 102 : 569.
- 6) Chen S, Ishii N, Ine S, et al. Regulatory T cell-like activity of Foxp3+ adult T cell leukemia cells. *Int Immunol* 2006 ; 18 : 269.
- 7) Matsubar Y, Hori T, Morita R, et al. Delineation of immunoregulatory properties of adult T-cell leukemia cells. *Int J Hematol* 2006 ; 84 : 63.
- 8) Shimauchi T, Kabashima K, Tokura Y. Adult T-cell leukemia/lymphoma cells from blood and skin tumors express cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and Foxp3 but lack suppressor activity toward autologous CD8+ T cells. *Cancer Sci* 2008 ; 99 : 98.
- 9) Abe M, Uchihashi K, Kazuto T, et al. Foxp3 expression on normal and leukemic CD4+CD25+ T cells implicated in human T-cell leukemia virus type-1 is inconsistent with Treg cells. *Eur J Haematol* 2008 ; 81 : 209.
- 10) Kondo S, Kotani T, Tsumori S, et al. Identification of biclonal (duplex) leukemia cells expressing CD4+/CD8- or CD4-/CD8+ from a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Br J Haematol* 1995 ; 89 : 669.
- 11) Shibata K, Shimamoto Y, Suga K, et al. Adult T-cell leukemia/lymphoma with two distinct clones in peripheral blood and lymph node. *Am J Hematol* 1995 ; 48 : 116.
- 12) Tsukasaki K, Tsushima H, Yamamura M, et al. Integration patterns of HTLV-1 provirus in relation to the clinical course of ATL: frequent clonal change at crisis from indolent disease. *Blood* 1997 ; 89 : 948.
- 13) Shimamoto Y, Kikuchi M, Funai N, et al. Spontaneous remission in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer* 1993 ; 72 : 735.
- 14) Kato N, Sugawara H, Aoyagi S, Mayuzumi M. Lymphoma-type adult T-cell leukemia-lymphoma with a bulky cutaneous tumor showing multiple human T-lymphotropic virus-1 DNA integration. *Br J Haematol* 2001 ; 144 : 1244.
- 15) Hata T, Fujimoto T, Tsushima H, et al. Multi-clonal expansion of unique human T-lymphotropic virus

- type-1-infected T cells with high growth potential in response to interleukin-2 in prodromal phase of adult T-cell leukemia. *Leukemia* 1999 ; 13 : 215.
- 16) Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A, et al. Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node. *Blood* 2011 Mar 29 [prepublished online].
- 17) Kamihira S, Sugahara K, Tsuruda K, et al. Proviral status of HTLV-1 integrated into the host genomic DNA of adult T-cell leukemia cells. *Clin Lab Haem* 2005 ; 27 : 235.
- 18) Koiwa T, Hamano-Usami A, Ishida T, et al. 5'-LTR-selective CpG methylation of latent HTLV-1 provirus in vitro and in vivo. *J Virol* 2002 ; 76 : 9389.
- 19) Furukawa Y, Tara M, Izumo S, Arimura K, et al. HTLV-I viral escape and host genetic changes in the development of adult T cell leukemia. *Int J Cancer* 2006 ; 118 : 381.
- 20) Satou Y, Yasunaga J, Yoshida M, et al. HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 ; 103 : 720.
- 21) Sasaki H, Nishikata I, Shiraga T, et al. Overexpression of a cell adhesion molecule, TSLC1, as a possible molecular marker for acute-type adult T-cell leukemia. *Blood* 2005 ; 105 : 1204.
- 22) Pichler K, Schneider G, Grassmann R. MicroRNA miR-146a and further oncogenesis-related cellular microRNAs are dysregulated in HTLV-I-transformed T lymphocytes. *Retrovirology* 2008 ; 5 : 100.
- 23) Yeung ML, Yasunaga J, Bennisner Y, et al. Roles for microRNAs, miR-93 and miR-130b, and tumor protein 53-induced nuclear protein 1 tumor suppressor in cell growth dysregulation by human T-cell lymphotropic virus 1. *Cancer Res* 2008 ; 68 : 8976.
- 24) Bellon M, Lepelletier Y, Hermine O, Nicot C. Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-I adult T-cell leukemia. *Blood* 2009 ; 113 : 4914.
- 25) Uozumi K. Treatment of adult T cell leukemia. *J Clin Exp Hematop* 2010 ; 50 : 9.
- 26) Tsukasaki K, Hermine O, Bazarbachi A, et al. Definition, prognostic factors, treatment and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma : a proposal from an international consensus meeting. *J Clin Oncol* 2009 ; 27 : 453.
- 27) Bazarbachi A, Plumelle Y, Carlos Ramos J, et al. Meta-analysis on the use of zidovudine and interferon-alfa in adult T-cell leukemia/lymphoma showing improved survival in the leukemic subtypes. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 4177.
- 28) Kchour G, Tarhini M, Kooshyar MM, et al. Phase 2 study of the efficacy and safety of the combination of arsenic trioxide, interferon alpha, and zidovudine in newly diagnosed chronic adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL). *Blood* 2009 ; 113 : 6528.
- 29) Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K, et al. Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 1591.

* * *

Current status of HTLV-1 infection

Toshiki Watanabe

Received: 10 August 2011 / Revised: 31 August 2011 / Accepted: 2 September 2011 / Published online: 4 October 2011
© The Japanese Society of Hematology 2011

Abstract It is 30 years since human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) was identified as the first human retrovirus. To assess the implications of the virus for human health it is very important to know the past and present prevalence. Most of the estimates of HTLV-1 prevalence are based on serological screening of blood donors, pregnant women and other selected population groups. The widely cited estimate that the number of HTLV-1 carriers in Japan is 1.2 million was calculated from data that are now more than 25 years old. Here I summarize previous reports of prevalence studies in the world and Japan. Then, a recent analysis of seroprevalence of healthy blood donors in Japan will be described in comparison with that of 1988. A decrease in the number of HTLV-1 carriers in Japan was demonstrated, however, it is still more than one million. The number has increased in the metropolitan areas, probably reflecting the migration of Japanese population. I conclude that there is a paucity of general population data in countries where HTLV-1 is endemic, and re-evaluation of HTLV-1 infection is required to understand the virus burden on the human health.

Keywords Seroprevalence of HTLV-1 · Vertical and horizontal transmission · Prevention of transmission

1 Introduction

Discovery of adult T-cell leukemia (ATL) by Takatsuki's group [1] was followed by the discovery of the first human

retrovirus human T-cell leukemia virus (HTLV) and adult T-cell leukemia virus (ATLV) by research groups of the United State and Japan, respectively [2, 3]. In 1980, Poiesz et al. [2] identified HTLV in a T-cell line from a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Independently of this, Hinuma and Miyoshi found specific antibodies against ATL cells in the patients' sera [3] and type C retrovirus particles produced by a T-cell line established from peripheral blood of ATL patient in 1981 [4]. In 1982, Yoshida et al. [5] identified ATL as a human retrovirus. Soon, HTLV and ATL were shown to be identical at the sequence level and were named HTLV type 1 (HTLV-1) [6, 7].

After the discovery of HTLV-1, related viruses have been isolated and HTLV is now composed of 4 related HTLVs, HTLV-1 to HTLV-4 [8]. However, only HTLV-1 has been convincingly linked to human diseases at present. HTLV-1 has six reported subtypes (subtypes A–F). Diverse studies have been performed on HTLV-1 subtyping but present a minor role in the epidemiological status of the virus. The great majority of infections are caused by the cosmopolitan subtype A, and there is no report of subtype influence on the pathogenic potential of HTLV-1 [9].

2 HTLV-1 infection in the world

Approximately 20 million people worldwide are estimated to be infected with HTLV-1 [10]. Among them, more than 90% remain asymptomatic carriers during their lives. Since 1986, HTLV-1 screening has been developed and was slowly implemented worldwide [11]. In 1993, HTLV-1 screening of blood donors was already performed in all developed countries and in many developing countries where HTLV-1 is endemic.

T. Watanabe (✉)
Department of Medical Genome Sciences,
Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo,
4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan
e-mail: tnabe@ims.u-tokyo.ac.jp

About the geographic distribution of the virus, a lot of studies have been done in these 30 years. Results indicate that Japan, Africa, the Caribbean islands, and Central and South America are the areas of highest prevalence in the world (reviewed in [12], [13]). However, the data from international prevalence studies should be interpreted and compared with caution as to the population selection criteria, because any difference in the diagnostic strategies can interfere with the final result. Data of the serological screening of healthy blood donors mainly provide basis for the estimation of the global prevalence of HTLV-1, which tends to underestimate the prevalence in the population. The geographic distribution of HTLV-1 infection is shown in Fig. 1 [13].

In addition to Japan, high rates of HTLV-1 infection have been reported for some Caribbean islands in studies of blood donors or segments of the general population. In Jamaica, the prevalence is around 5%. In Africa, the seroprevalence increases from the north to the south, varying from 0.6% in Morocco to greater than 5% in several sub-

Saharan African countries, for example, Benin, Cameroon, and Guinea-Bissau, however, more studies are clearly required about these regions in detail. In Europe and North America, the prevalence is low and limited to groups that emigrated from endemic areas. For blood donors, very low rates were found in France (0.0039%) and the United States (0.025%). In South America, the virus was found in all countries, but more studies of the general population are needed to ascertain the real prevalence of HTLV-1. Medium prevalence was found in blood donors from Chile (0.73%) and Argentina (0.07%). In Australia, a prevalence of 14% was reported in a cluster among Aborigines in the Northern Territory, even though the prevalence in blood donors is low. The prevalence of HTLV-1 was highest in the two studies of Japanese islands (36.4%) and lowest in studies from Mongolia, Malaysia and India. In Haiti the prevalence was 3.8%; in Africa between 6.6 and 8.5% in Gabon, and 1.05% in Guinea. Only three studies were from West Africa and none were from the South; the only study from India was from the north of the country. It has to be



Fig. 1 Countries with endemic HTLV-I, defined as prevalence between 1 and 5% in some populations, are shown in red. Countries with reports of low prevalence (less than 1% in some groups), due mainly to immigration from endemic areas, are shown in yellow.

It should be noted that HTLV-I endemic areas do not correspond exactly to the country boundaries shown in the map, for example, Brazil, Japan and Iran, where HTLV-I is limited to residents of certain areas of each country (modified from the reference [13])

concluded that there is a paucity of general population data from countries in which HTLV-1 is endemic, and that new studies are required to reevaluate the global burden of infection (reviewed in ref. [12] and [13]).

3 HTLV-1 Infection in Japan

3.1 Past studies of HTLV-1 carriers

Many efforts have been made to know the number of HTLV-1 carriers since the discovery of the virus in Japan. An example of early nationwide studies is the report of seropositive rates in the 15 blood centers of Japanese Red Cross [14]. It was reported that among 15 blood centers, 7 showed a higher positive rates between 6 and 30%, tested by indirect immunofluorescence assays (IFA). The other report is based on the data of all blood centers in Japan, which was the only study of all areas of Japan before the recent survey by Satake et al. [15]. They studied by IFA about 15,000 samples composed of 200 samples of blood donors aged from 40 to 64 from each center. The highest positive rate of 8% was observed in Kyushu area, and other areas showed positive rates of 0.3–1.2%. Based on these data, authors estimate seropositive rates of blood donors as about 3% in Kyushu and 0.08–0.3% in other areas of Japan. Using this study, Tajima et al., later estimated the total number of HTLV-1 carriers in Japan as 1.2 million [16].

There have been reports of community-based studies on seropositivities in Japan. One of the studies reported a very high seropositive rate (higher than 40%) in the people over 40 years of age [17]. An old study of the Tsushima Island revealed significant differences in the seropositive rate among villages with a high rate of more than 30% [18]. In Okinawa, a very high rate (21%) of HTLV-1 carriers in the general population of older than 40 was reported [19]. In a study of blood donors in Nagasaki prefecture from 1990 to 1999, positive rate of HTLV-1 antibodies decreased from 3.39 to 2.78% during 10 years. When focusing on the birth year of the donors, positive rates showed a decrease from 13.14 to 0.81% over the years from 1928 to 1983 [20]. On the other hand, the seroprevalence rate in Kumamoto prefecture was reported to be 3.6 or 4.7% in 1987–1988 [21, 22]. A survey on the general population was reported in Hokkaido. The average seropositive rate was 0.8% (male 0.6% and female 0.9%), with some regions showing higher seroprevalence rates as much as 5.2% [23].

Taken together, studies in 1980s and 1990s were mostly community-based ones using sera of blood donors. The oldest nationwide survey of the seroprevalence of HTLV-1 in blood donors and estimation of the number of HTLV-1 carriers [15, 16] had been referred to as the only published information until recently.

3.2 Recent studies of HTLV-1 infection in Japan

Based on the numbers of seropositive blood donors, Satake et al. have estimated the number of HTLV-1 carriers in Japan [15]. They analyzed data of blood donors who donated for the first time in 2006 and 2007, because Japanese Red Cross Blood center has notified the donors with the results of screening tests since 2000. This notification would have caused a bias in the population of total blood donors reducing the number of HTLV-1 carriers. In Satake's study, the total of number of tested was 1,196,321 (M: 704,074; F: 492,247), among them, HTLV-1 antibody was confirmed to be positive in 37,787 (M: 2,115; F: 1,672). Thus, the positive ratio was 0.32% for both male and female. Since the ages of blood donors were limited between 16 and 64, they estimated the seropositive rates of the peoples of younger than 15 or older than 65 by an assumption that the positive rate will increase exponentially in the young population, and for the aged people, by adding the average increase in the percentage in each age group in 20 years comparing with the data in 1988. Consequently, the estimated number of HTLV-1 carriers in 2007 was 1,078,722. The number of HTLV-1 carriers was estimated to be 492,582 in Kyushu area (including Okinawa), 171,843 in Kinki area (containing city areas of Osaka, Kyoto, Kobe) and 190,609 in Kanto area (containing the greater Tokyo area). The percentages of carriers in these areas among the total carriers were 45.7, 15.9 and 17.7%, respectively.

The age distribution of carriers showed a shift of the peak to the aged population. In 1988, the largest number of carriers was observed in the age group of 50–59, whereas in 2007 it was in the age groups of 60–69 and 70–79. The number of carriers in the age groups between 0–9 and 50–59 showed a significant decrease. This decline could be explained by changes in the life styles of Japanese people such as smaller number of children per family and shorter period of breast feeding. However, the exact reasons remain to be elucidated, especially considering the same tendency observed in the study of Brazilian people [24] and the age-dependent increase in the seropositivity in the colony of Japanese monkeys [25, 26].

Comparison of the regional distribution of the carriers in the present study with that reported by a Japanese study group in 1990 [27] revealed a significant decrease of the HTLV-1 carriers in Kyushu area (50.9 to 45.7%) and an increase in Kanto area (10.8 to 17.7%). The observed changes were considered to be mainly due to the migration of Japanese people from the Kyushu/Okinawa area to the metropolitan areas (Fig. 2). This interpretation is supported by the observation of Uchimaru et al. [28], who studied HTLV-1 carriers in Tokyo area and revealed that many of HTLV-1 carriers in Tokyo are either born in

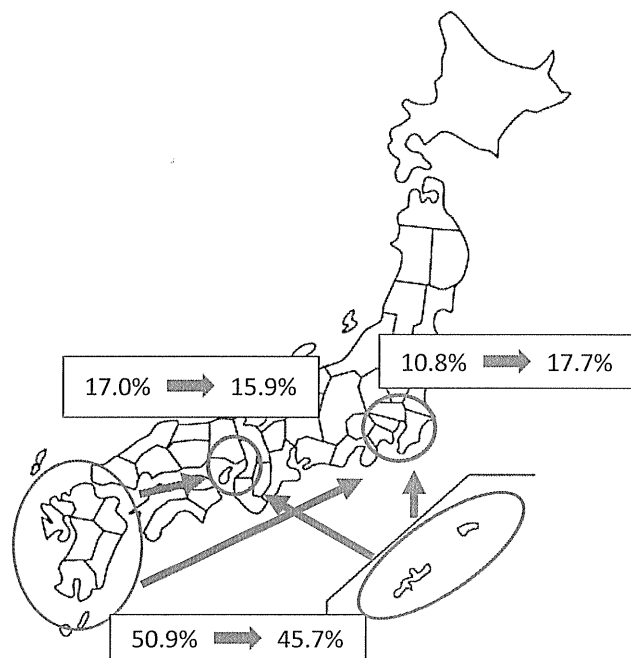


Fig. 2 Distribution of HTLV-1 carriers in Japan. Migration to the metropolitan areas is apparent. The number of HTLV-1 carriers in the endemic areas is still the largest, however, those in the great Tokyo area is significantly increasing

the endemic areas or the descendants of migrants from those areas.

4 Remaining problems and future directions

We have attributed the decrease in the HTLV-1 prevalence in Japan to the modernization and westernization of life styles of Japanese people. However, when we consider the same tendency in Brazil and age-dependent increase of seropositive rates in Japanese monkeys, we have to be cautious about interpretation of the observed data and may have to re-evaluate the meaning of the age-dependent carrier rates.

Another point that was raised by Satake's study is unexpectedly high increase in the positive rates in 20 years in the age-cohort [15]. This indicates the presence of horizontal transmission of the virus, probably through sexual contacts. This mode of infection should have contributed, at least to some extent, to the age-dependent increase in the positive rates. Thus, epidemiological studies on the horizontal transmission are definitely required; however, no such studies are now under way in Japan.

Taken together, we have to realize that we do not have enough data about the prevalence of HTLV-1 even in Japan, where serological data of blood donors are the only

information to estimate the prevalence. Serological screening of the pregnant women that started in 2011 will provide valuable information about young females in Japan. Since the number of carriers who develop ATL is estimated about 1,200 per year in Japan, we have to expect more than 20,000 ATL patients from the present carriers in the future. In addition to the screening for the blood donors, prevention of mother-to-child infection by stopping breast feeding will greatly reduce the vertical transmission, nonetheless, there still remain other modalities of HTLV-1 infection, that are sexual transmission and possible trans-uterine infection. Neutralizing antibodies are often observed in carriers of HTLV-1 [29–32]. Furthermore, previous reports suggest that a primed immune response can be protective or prevent infection postviral exposure and challenge. It was shown that maternally acquired antibody protect infants from HTLV-1 infection in the early months of life [33]. A vaccine candidate based on an envelope expressing vaccinia virus provides protection to experimentally challenged primates [34, 35], and an attenuated viral strain provides long-term protection against the closely related bovine leukemia virus [36]. Taking all these into consideration, a cost-effective vaccine may be a viable objective for prophylactic intervention in HTLV-1-endemic areas.

References

1. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood*. 1977;50:481–92.
2. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980;77:7415–9.
3. Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI, et al. 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*. 1981;78:6476–80.
4. Miyoshi I, Kubonishi I, Yoshimoto S, Akagi T, Ohtsuki Y, Shiraishi Y, et al. Type C virus particles in a cord T-cell line derived by co-cultivating normal human cord leukocytes and human leukaemic T cells. *Nature*. 1981;294:770–1.
5. Yoshida M, Miyoshi I, Hinuma Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1982;79:2031–5.
6. Watanabe T, Seiki M, Yoshida M. Retrovirus terminology. *Science*. 1983;222:1178.
7. Gallo RC. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. *Oncogene*. 2005;24:5626–930.
8. Mahieux R, Gessain A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: new members of the HTLV family. *Pathol Biol (Paris)*. 2009;57:161–6.
9. Ono A, Miura T, Araki S, Yamaguchi K, Takatsuki K, Mori S, et al. Subtype analysis of HTLV-1 in patients with HTLV-1 uveitis. *Jpn J Cancer Res*. 1994;85:767–70.

10. de Thé G, Kazanji M. An HTLV-I/II vaccine: from animal models to clinical trials? *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1996;13(Suppl 1):S191–8.
11. Inaba S, Sato H, Okochi K, Fukada K, Takakura F, Tokunaga K, et al. Prevention of transmission of human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) through transfusion, by donor screening with antibody to the virus. One-year experience. *Transfusion.* 1989;29:7–11.
12. Goncalves DU, Proietti FA, Ribas JGR, Araujo MG, Pinheiro SR, Guedes AC, et al. Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23:577–89.
13. Proietti FA, Anna Bárbara, Carneiro-Proietti F, Bernadette C, Catalan-Soares, Murphy EL, et al. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene.* 2005;24:6058–68.
14. Hinuma Y, Komoda H, Chosa T, Kondo T, Kohakura M, Takenaka T, et al. Antibodies to adult T-cell leukemia-virus-associated antigen (ATLA) in sera from patients with ATL and controls in Japan: a nation-wide sero-epidemiologic study. *Int J Cancer.* 1982;29:631–5.
15. Satake M, Yamaguchi K. Annual report of the group study for survey of HTLV-1 infection and HTLV-1 related diseases in Japan. 2009 (in Japanese) (Manuscript submitted).
16. 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.* 1990;45:237–43.
17. Kohakura M, Nakada K, Yonahara M, Komoda H, Imai J, Hinuma Y. Seroepidemiology of the human retrovirus (HTLV/ATLV) in Okinawa where adult T-cell leukemia is highly endemic. *Jpn J Cancer Res.* 1986;77:21–3.
18. Tajima K, Kamura S, Ito S, Ito M, Nagatomo M, Kinoshita K, Ikeda S. Epidemiological features of HTLV-I carriers and incidence of ATL in an ATL-endemic island: a report of the community-based co-operative study in Tsushima, Japan. *Int J Cancer.* 1987;40:741–6.
19. Kohakura M, Nakada K, Yonahara M, Komoda H, Imai J, Hinuma Y. Seroepidemiology of the human retrovirus (HTLV/ATLV) in Okinawa where adult T-cell leukemia is highly endemic. *Jpn J Cancer Res.* 1986;77:21–3.
20. Chiyoda S, Kinoshita K, Egawa S, Inoue J, Watanabe K, Ifuku M. Decline in the positive rate of human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) antibodies among blood donors in Nagasaki. *Intern Med.* 2001;40:14–7.
21. Lee SY, Mastushita K, Machida J, Tajiri M, Yamaguchi K, Takatsuki K. Human T-cell leukemia virus type I infection in hemodialysis patients. *Cancer.* 1987;60:1474–8.
22. Iida S, Fujiyama S, Yoshida K, Morishita T, Shibata J, Sato T, et al. The seroprevalence of anti-HTLV-1 antibodies in patients with various liver diseases. *Hepatogastroenterol.* 1988;35:242–4.
23. Kwon KW, Yano M, Sekiguchi S, Iwanaga M, Fujiwara S, Oikawa O, et al. Prevalence of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-I) in general inhabitants in non-adult T-cell leukemia (ATL)-endemic Hokkaido, Japan. *In Vivo.* 1994;8:1011–4.
24. Barcellos NT, Fuchs SC, Mondini LG, Murphy EL. Human T lymphotropic virus type I/II infection: prevalence and risk factors in individuals testing for HIV in counseling centers from Southern Brazil. *Sex Transm Dis.* 2006;33:302–6.
25. Ishida T, Yamamoto K, Kaneko R, Tokita E, Hinuma Y. Seroepidemiological study of antibodies to adult T-cell leukemia virus-associated antigen (ATLA) in free-ranging Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Microbiol Immunol.* 1983;27:297–301.
26. Hayami M, Komuro A, Nozawa K, Shotake T, Ishikawa K, Yamamoto K, et al. Prevalence of antibody to adult T-cell leukemia virus-associated antigens (ATLA) in Japanese monkeys and other non-human primates. *Int J Cancer.* 1984;33:179–83.
27. Tajima K, Itoh S, Itoh T, Kinoshita K, Shimotohno K. Epidemiology of ATL and HTLV-1. In: the annual report of the group study “Inhibition of mother-to-child infection and ATL” (1990). 1991 (in Japanese).
28. Uchimarū K, Nakamura Y, Tojo A, Watanabe T, Yamaguchi K. Factors predisposing to HTLV-1 infection in residents of the greater Tokyo area. *Int J Hematol.* 2008;88:565–70.
29. Astier-Gin T, Portail JP, Londos-Gagliardi D, Moynet D, Blanchard S, Dalibert R, et al. Neutralizing activity and antibody reactivity toward immunogenic regions of the human T cell leukemia virus type I surface glycoprotein in sera of infected patients with different clinical states. *J Infect Dis.* 1997;175:716–9.
30. Londos-Gagliardi D, Armengaud MH, Freund F, Dalibert R, Moze E, Huet S, et al. Antibodies directed against a variable and neutralizable region of the HTLV-I envelope surface glycoprotein. *Leukemia.* 1997;11(Suppl. 3):38–41.
31. Hadlock KG, Rowe J, Perkins S, Bradshaw P, Song GY, Cheng C, et al. Neutralizing human monoclonal antibodies to conformational epitopes of human T-cell lymphotropic virus type 1 and 2 gp46. *J Virol.* 1997;71:5828–40.
32. Hadlock KG, Rowe J, Fong SK. The humoral immune response to human T-cell lymphotropic virus type 1 envelope glycoprotein gp46 is directed primarily against conformational epitopes. *J Virol.* 1999;73:1205–12.
33. Takahashi K, Takezaki T, Oki T, Kawakami K, Yahiski S, Fujiyoshi T, et al. Inhibitory effect of maternal antibody on mother-to-child transmission of human T-lymphotropic virus type I. *Int J Cancer.* 1991;49:673–7.
34. Kazanji M, Heraud JM, Merien F, Pique C, de The G, Gessain A, Jacobson S, et al. Chimeric peptide vaccine composed of B- and T-cell epitopes of human T-cell leukemia virus type 1 induces humoral and cellular immune responses and reduces the proviral load in immunized squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J Gen Virol.* 2006;87:1331–7.
35. Kazanji M, Tartaglia J, Franchini G, de Thoisy B, Talarmin A, Contamin H, Gessain A, de The G, et al. Immunogenicity and protective efficacy of recombinant human T-cell leukemia/lymphoma virus type 1 NYVAC and naked DNA vaccine candidates in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J Virol.* 2001;75:5939–48.
36. Kerkhofs P, Gatot JS, Knappen K, Mammereckx M, Burny A, Portetelle D, Willems L, Kettmann R. Long-term protection against bovine leukaemia virus replication in cattle and sheep. *J Gen Virol.* 2000;81:957–63.

感染に由来するヒトの腫瘍—その現状と対策

成人 T 細胞白血病ウイルスと 白血病/リンパ腫

WATANABE TOSHIKI

渡邊俊樹

◎東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻

要旨 HTLV-1 のキャリアは我が国の人口の約 1% に相当する。ATL はいまだに治療抵抗性で予後不良の白血病/リンパ腫であり、母子感染予防、発症予防および新規治療法開発の 3 者が緊急の課題である。昨年末に策定された「HTLV-1 感染総合対策」に基づき、これらの課題に取り組み、早急に成果を上げることが期待される。既存の薬剤の検証、抗体療法の開発、分子病態を基盤とした分子標的薬の開発が必要である。

はじめに

1977 年に京都大学の高月らが「成人 T 細胞白血病 (ATL)」を新たな疾患概念として報告してから 30 年以上が過ぎた。その後、ATL の研究からヒトで初めての白血病ウイルスが我が国と米国ではほぼ同時に同定され、我が国では ATL、米国では HTLV として報告された。後に、ウイルスの名称は HTLV に統一され、ATL の原因ウイルスであることが実験的に証明されて現在に至っている^{1,2)}。現在では、ATL は「HTLV-1 感染細胞が腫瘍性増殖を示したもの」と定義されている³⁾。本稿では、ウイルス感染による発癌のモデルとして ATL 発症を位置づけ、最初に我が国における HTLV-1 感染の現状、HTLV-1 のウイルス分子の機能から感染宿主細胞の腫瘍化に与える影響について概説し、次に、50 年にわたる時間の中で腫瘍化イベント蓄積した結果である ATL 細胞内での分子病態解析結果の概略を整理し、最後に、ATL 治療の現状と新たな試みに触れることにする。

■我が国における HTLV-1 感染の現状

1980 年代に多くの疫学研究がなされたが、それ以後 20 年にわたって感染の実態把握がなされていない。最近、厚生労働省科学研究費の研究班「本邦における HTLV-1 感染及び関連疾患の実態調査と総合対策」が、2007 年の献血者の抗体陽性率に基づく推計値を明らかにした¹⁾。その結果、全国で約 107 万 9 千人のキャリアがいるとの結果が得られた。同時に、同様のデータが得られる 1988 年の推定感染者数は 130 万 5 千人であった。全国を 8 ブロックに分けた地域分布から見ると、全感染者に占める割合は、九州・沖縄地区が 45.7% と半数を下回り、首都圏を含む関東甲信越の割合が 17.7%、大阪等の近畿地方が 15.9% であり、大都市圏へのキャリアの移動が推察された。平成 22 年 9 月、菅 直人首相が首相官邸に「HTLV-1 特命チーム」を設置し、感染予防、啓発活動、研究開発の促進等からなる「HTLV-1 総合対策」を決定した。これによって、全国で妊

臨床と微生物 Vol.38 No.3 2011.5. — 241 • 049

婦の抗体スクリーニングが実施され、母子感染予防に本格的に取り組む体制ができた。また、これまで継続性と総合性に欠ける点があった HTLV-1/ATL の研究開発体制も整備されるものと期待される。

■ATL の臨床疫学

ATL は 20 歳以上の成人に発症し、発症平均年齢は約 60 歳である。男女比では 1.2 : 1 と男性が多い。臨床的には、急性型 (acute type)、リンパ腫型 (lymphoma type)、慢性型 (chronic type)、くすぶり型 (smoldering type) の 4 病型と、慢性型あるいはくすぶり型から急性型あるいはリンパ腫型へ変化する急性転化 (blast crisis) という病態に分けられる。白血病で発症する症例が 7 割で残りの 2~3 割がリンパ腫型である²⁾。臨床的な特徴としては、皮膚病変、臓器浸潤、高カルシウム血症に加え、免疫不全による日和見感染症があげられる (図 1)。厚生労働省の人口動態統計の死因から見ると、2000 年代になって年間 1,150 人前後が ATL で死亡している。厚生労働省の研究班の 2009 年度の実態調査によると、年間の ATL 患者数は 1,146 名と推定された³⁾。

■HTLV-1 による感染 T リンパ球の腫瘍化機構

HTLV-1 がコードする蛋白質には、レトロウイルスに共通の Gag, Pol, Env の構造蛋白質に加えて、Tax および Rex という制御蛋白質、および p12^I, p13^{II}, p30^{III} (I, II は ORF を表す) のアクセサリ蛋白質、およびアンチセンスから転写される HBZ が存在する (図 2)。これらのウイルス蛋白質は、ウイルス粒子の構成成分に加えて、本来、ウイルスの効率的な自己複製とライフサイクルの完結に必要なものである。一方、これらの蛋白質が感染細胞内で発現すると、それが宿主細胞に対して様々な作用を及ぼす。Tax は分子量 40kDa のリン酸化蛋白質であり、主に核内に局在する。ウイルス複製の観点から見ると、Tax

- 1) 男性優位：男女比 1.2 : 1
成人発症：平均発症年齢約 60 歳
地域集積性：西南日本
家族集積性：家族内発症
- 2) 特徴的症状：白血病細胞の臓器浸潤
高カルシウム血症、日和見感染症
- 3) 予後：不良
- 4) 生涯発症率：感染者の数% (5%?)

- 病型：1. 急性型
2. リンパ腫型
3. 慢性型
4. くすぶり型
病態：急性転化

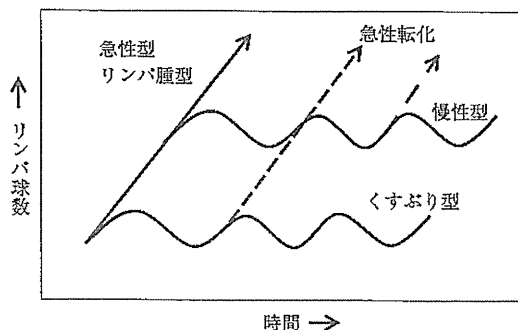


図 1 ATL の臨床疫学的特徴

はウイルス遺伝子の強力な転写活性化因子である。一方、感染細胞の不死化・腫瘍化に決定的な意義を持つと考えられている HTLV-1 の制御蛋白質 Tax の機能について、現在の知見を整理すると図 4 のようになる。その機能は、細胞性遺伝子発現の脱制御とシグナル伝達系の活性化を通じた細胞増殖とアポトーシス抑制、DNA 修復機構の抑制と染色体異常の誘発によるゲノム不安定性の誘導という、共通の腫瘍化過程にかかわるものであり、腫瘍化のイニシエーションにかかわると考えられる (図 3, 4)。Tax の機能の詳細は、他の総説を参照されたい⁴⁾。

最近では、他の非構造蛋白質である p12^I, p13^{II}, p30^{III} の 3 つのアクセサリ蛋白質、およびアンチセンス転写産物とその翻訳産物 HBZ の機能が注目されているが、細胞の癌化への関与は明らかでない。アンチセンスから発現する HBZ

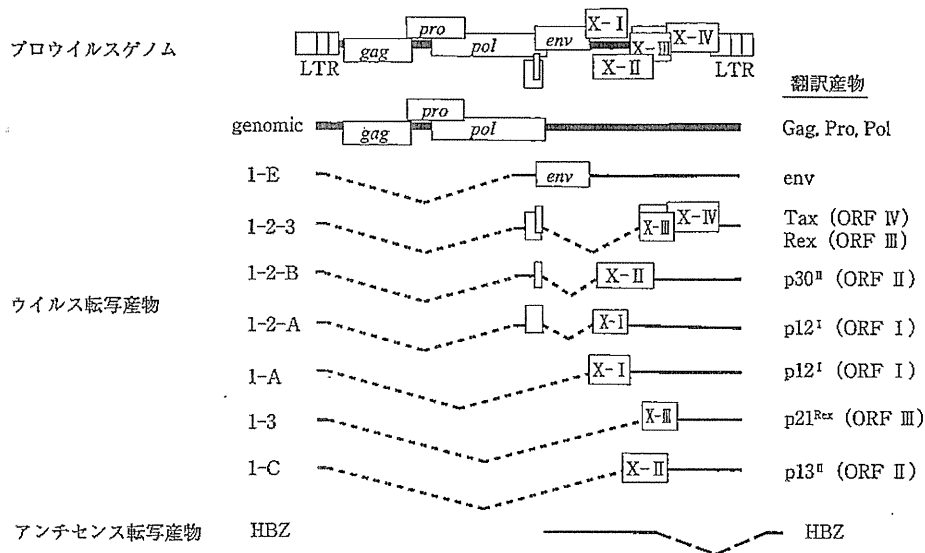


図2 HTLV-1プロウイルスの遺伝子構造と転写・翻訳産物

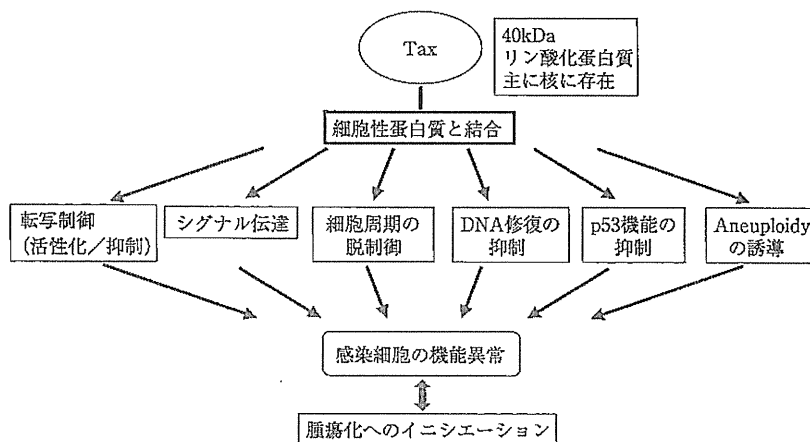


図3 Taxの多彩な機能

は、キャリアの感染細胞あるいはATL細胞で常に発現しているとの報告がある。HBZ蛋白質は約25kDaの核蛋白質であり、機能的にはTaxによる転写活性化に対して拮抗的に働き、生体内での感染効率を高める、あるいはHTLV-1で腫瘍化した細胞の増殖に促進的に機能し、この作用はRNAレベルでも認められるという報告もある⁵⁾。

■ATL細胞の特徴

末梢血におけるATL細胞は典型的には「花細胞 (flower cell)」と呼ばれ、過分葉してクロマチンの濃縮した核を持ち、普通明確な核小体を示さない。この特有の核の形態は、ATL細胞のAILIM/ICOSシグナルによるPI3-kinaseの活性化によることが報告されている⁶⁾。ATL細胞に

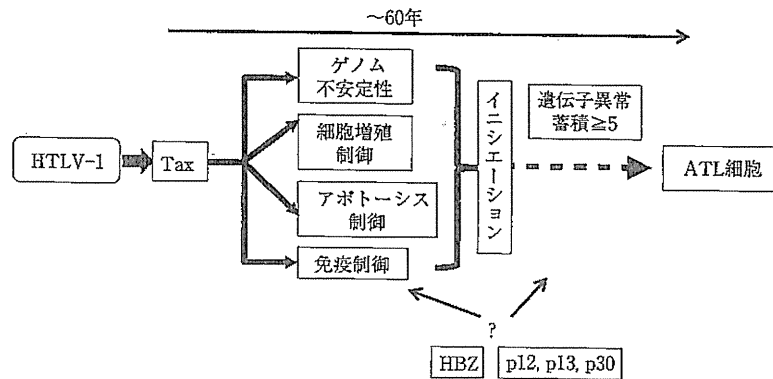


図4 HTLV-1の細胞腫瘍化機構

HTLV-1感染で発症するATLは多段階発癌機構によって発症する。ウイルスの癌遺伝子Taxは強力かつ多彩な機能を持ち、免疫制御、アポトーシス制御、細胞増殖、ゲノム不安定性のすべてに関与するが、ATL細胞ではウイルスゲノムが欠損・変異したり、エピジェネティックに抑制されており、発現は認められない。したがって、イニシエーションに関与すると考えられている。HBZの作用に関する分子機序は明らかでない。

発現する膜抗原は、典型的にはCD3^{dim}CD4⁺CD8⁻CD25⁺HLA⁻DR⁺とされるが、CD25やHLA-DRの発現は全例に認められるわけではない。CD4⁺CD8⁺の例は約7%であり、CD4⁻CD8⁻も7%、CD4⁻CD8⁺の症例も4%の割合であると報告されている⁷⁾。最近の報告では、急性型ATL患者の末梢血リンパ球をmulti-color FACSで検討し、腫瘍細胞がCD3(dim) CD7(low)のCD4⁺Tリンパ球分画に対応することが確認された⁹⁾。末梢血中の腫瘍細胞集団を同定し、その細胞生物学的表現型を解析する上で有用な情報であると考えられる。ATL細胞でFoxP3およびCTLA-4の発現があることから、一部には「ATLが制御性T細胞(Treg)が腫瘍化したものである」との考えがある。しかし、多くの報告から、FoxP3およびCTLA-4の発現が半数以下の例に限られること、*in vitro*でのCD4⁺あるいはCD8⁺Tリンパ球の増殖抑制能を持つのはさらにその一部であることが確認されている⁹⁻¹²⁾。したがって、ATL細胞におけるFoxP3等の発現は、制御性T細胞の腫瘍化を示すものではなく、腫瘍化過程で獲得された形質の一つに過ぎないと考えるのが妥当であろう。

■ATL細胞の腫瘍化とプログレッション

岡本らは、ATL患者の年齢分布からWeibullのモデルを用いて、ATLの発症は典型的な多段階発癌モデルに一致すること、腫瘍化に至るには5つあるいはそれ以上のgenetic eventの蓄積があると考えられることを示した¹³⁾。ATL細胞のサザンプロット法での解析結果から、ATLは「HTLV-1感染細胞が腫瘍化してモノクローナルに増殖したもの」と考えられている。しかし、複数のクローンが多段階発癌のプロセスをたどり、ある時点では同時に2つ以上のクローンが腫瘍細胞として共存しうることを示唆する報告がある。最近のSetoらの報告では、ATL細胞がリンパ節内でprogressionして末梢血に出現することを示唆している¹⁴⁾。したがって、生体内では、多段階のステップを種々のレベルまでたどったいくつかのクローンがオリゴクローナルに存在しており、そのうちの1あるいは数個のクローンが急速に増殖を示して顕在化したものが、臨床的に認知されるATLであり、さらに腫瘍化後もリンパ節においてclonal progressionを継続していると考えるのが妥当であると思われる。

■包括的なゲノム異常解析と 遺伝子発現解析の現状

ATL細胞における遺伝子異常は、ある特定の遺伝子一つで説明できるものではないことが明らかである。そこで、ATL細胞におけるゲノム異常と遺伝子発現以上を包括的に解析し、確実なデータベースを構築して次の展開を図ることが必須である。

1. microarrayによる発現解析

最近、ATL細胞の遺伝子発現解析の結果が論文として報告されているが、その内容は、感染細胞株を対象にしたものと新鮮ATL細胞を解析したものに分かれる。In vitroで培養された細胞株を用いたデータの意義付けは限界があると考えられる。検体の解析も複数報告されているが、対象検体数が少ないため、一般性には限界があると考えられる。筆者らは、全国共同研究組織JSPFADによって構築されたマテリアルバンクを用い、50例のATL検体を対象にしたデータベースを構築し解析中である。現在詳細は検討中であるが、全体的な特徴としては以下の点が指摘できる。①すでに発現異常が報告されている遺伝子の発現異常が確認された。②Tリンパ球以外の臓器組織特異的な遺伝子群の異所性過剰発現が認められる。③過剰発現遺伝子中に、機能未知遺伝子が多く含まれる。

ATL細胞におけるmiRNAの発現解析を報告した論文は3報ある¹⁵⁻¹⁷⁾。これらの報告間では共通の結果が少なく、いずれがより正確な情報が判定できない。筆者らはATL41検体について、CD4陽性細胞を対照として比較したデータベースを作成した。その結果、有意に発現レベルの異なる55の遺伝子が同定されている。その特徴は、①発現異常の実体は大多数で発現低下である。②ATL検体中で共通の発現異常を示すことが多い。③発現の欠損を示すmiRNAの標的遺伝子候補に、T細胞での重要な機能が知られている遺伝子が

含まれる。現在、これらのmiRNA発現異常の機能的な意義の解析が進められている。

2. ゲノム異常の解析

筆者らは、これまでJSPFADのマテリアルバンクのATL170検体を用いて、SNPアレイチップと解析ソフトCNAGを用いてゲノムコピー数解析を進めてきた。その結果、ATL細胞における染色体異常の包括的な情報が得られたが、その特徴はコピー数の増幅、LOH、uniparental disomy (UPD)異常が染色体の一定の領域を単位として起こっていること、増幅や欠損領域にはTリンパ球で機能する重要な遺伝子が多数含まれ、増幅あるいは欠損を示していることなどが明らかになった。現在、これら約200遺伝子に注目し、その機能的意義の解析を進めている(未発表データ)。

■ATLの治療の現状と課題

1. 治療の現状と基本的方針

1) 化学療法

従来の多剤併用化学療法の臨床治験の試みと成績を取りまとめて表1に示した。現時点では急性型、リンパ腫型およびハイリスクの慢性型ATLの治療の第1選択はLSG15(あるいはmodified LSG15)プロトコールであると考えられる。しかし、このような細胞毒性の強い治療法を適用できない患者が大多数であり、CHOP療法あるいは経口剤による対症療法で対処せざるを得ない例が多いのが実態である¹⁸⁾。現在の診断と治療の流れを図5に示す。2007年に筆者が会長として箱根で開催した第13回「HTLV-1国際会議」での議論を元に、ATLの治療法に関する国際的な合意の形成が長崎大学の塚崎らによって取りまとめられた(表2)¹⁹⁾。

2) 血液幹細胞移植療法(SCT)

現在も臨床治験が進められている。予後不良のATLに対して行われたSCTのこれまでの成績を総括すると、生存期間中央値は延長し、30~40%

臨床と微生物 Vol.38 No.3 2011.5 — 245 ● 053

表1 JCOG-LSGによるATLの臨床治験

名称	期間	プロトコール名	症例数	CR (%)	PR (%)	MST (月)	生存率 (%)
JCOG 7801	1978~1980	LSG1(VEPA)	18	16.7	N/A	5	N/A
JCOG 8101	1981~1983	LSG1(VEPA) LSG2(VEPA-M)	24 30	16.7 36.7	N/A N/A	7.5	8.3 (4年)
JCOG 8701	1987~1990	LSG4	43	41.9	N/A	8	12 (4年) 15.5 (2年)
JCOG 9109	1991~1993	LSG11	62	28.3	23.3	7.4	10.3 (5年)
JCOG 9303	1994~1996	LSG15	96	35.5	45.2	13	31.3 (2年)
JCOG 9801	1998~2003	mLSG15 mLSG19	57 61	40 25	32 41	12.7 10.9	24 (3年) 13 (3年)

CR: complete response, PR: partial response, MST: 生存期間中央値, N/A: not available

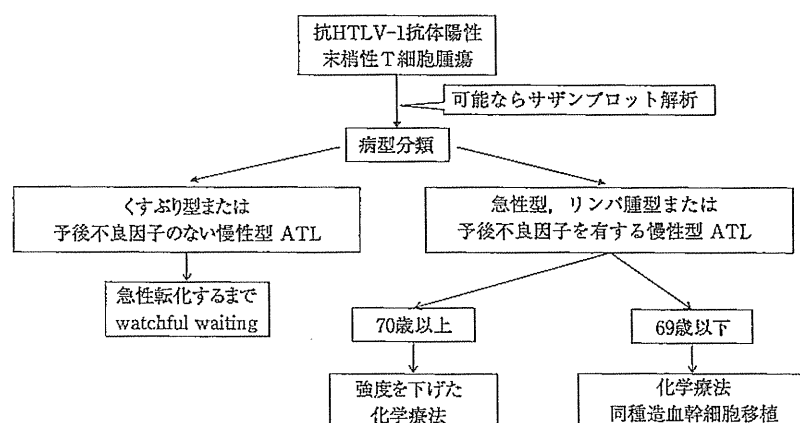


図5 ATLの診断と治療の流れ

の例で長期生存が期待できるが、治療関連死が多いということになる。ATLのSCTにはいくつかの問題・制約があると考えられる。患者の年齢が高いことで、一般のSCTの適応が限られること、HTLV-1非感染donorが得られにくいこと等である。このような背景から、前処置を軽減した reduced-intensity conditioning stem cell transplantation (RIST) が注目されており、その有効性に関する検討も進められている。また、臍帯血幹細胞移植 (UCBT) の有効性に関してはまだ明確なエビデンスが得られていない。また、HLAが適合したdonorが得られない場合の、HLA-haploidentical donorからのallo-SCTも検討課
054 ● 246 — 臨床と微生物 Vol.38 No.3 2011.5.

題であると思われる¹⁸⁾。

2. 新たな治療法の模索

1) 化学療法

既存の治療法の現状が上記のように満足できる状態ではないので、新たな治療法、特に化学療法剤の開発が求められている¹⁸⁾。Zidovudine (AZT) と interferon の併用療法は、欧米のグループから多数の報告があるが、我が国でのデータは、平成22年度から開始された塚崎らの班研究で臨床研究の結果を待たなくてはならない。他の例としては、急性前骨髄球性白血病 (APL) での有効性が知られている亜ヒ酸がATLに対して

表2 ATLの治療戦略についての国際的合意による指針

1. くすぶり型, あるいは予後不良因子を有さない慢性型 ATL 臨床試験への参加 有症候の場合(皮膚病変, 日和見感染症など): interferon/zidovudine 療法あるいは watch and wait 無症候の場合: watch and wait
2. 予後不良因子を有する慢性型, あるいは急性型 ATL 臨床試験への参加 化学療法 (VCAP-AMP-VECP 療法など) ± 同種造血幹細胞移植 interferon/zidovudine 療法
3. リンパ腫型 ATL 臨床試験への参加 化学療法 (VCAP-AMP-VECP 療法など) ± 同種造血幹細胞移植
4. 再発・難治の ATL 同種造血幹細胞移植の検討 新薬開発の臨床試験への参加

参加国: 日米英仏伯レバノン

文献 19)

も有効との報告があるが, 我が国での追試はまだ行われていない。また, all-trans retinoic acid (ATRA) も, 亜ヒ酸との併用効果に関しては検討の余地がある。新たな合成レチノイドとして, NIK333 や Am80 についても検討がなされている。ATL 細胞では NF- κ B が恒常的に活性化されていることから, NF- κ B 阻害剤については, IKK 阻害剤である Bay11-7082 および NF- κ B 核移行阻害薬 DHMEQ 等の前臨床のデータが報告されている。これらの臨床治験はまだ行われていない。プロテアソーム阻害剤である bortezomib は NF- κ B も阻害することが報告されており, 臨床治験では非ホジキンリンパ腫の一部での有効性が報告されている。ATL に関しては有効性を示す前臨床レベルの報告がある。HDAC 阻害剤では, 一部の薬剤が皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) に有効であることが報告されている。In vitro の実験では HTLV-1 感染細胞株および新鮮 ATL 細胞に対しての有効性が確認されており, 臨床治験による検証が必要である。

2) 抗体療法

現在, 第 II 相の臨床治験が進んでいる脱フコシル化 CCR4 抗体 (KW-0761) は, 早期に承認されて, 臨床現場での使用が可能になることが期待される¹⁹⁾。他にも, CD25, CD2, CD52, CD30 およびトランスフェリンレセプター (CD71) に対する単クローン抗体を用いた抗体療法が検討中であり, 一部は臨床治験の段階にある。ただ, ATL に対しての有効性を検証する臨床治験が十分行われていない。

おわりに

ATL はウイルス感染によって感染細胞そのものが多段階発癌の機構で腫瘍化する特異な癌である。したがって, ATL 研究の方向性も, ウイルス側と腫瘍細胞側の 2 方向からのアプローチが必要である。しかし, ATL 細胞では HTLV-1 の癌遺伝子に相当する Tax は発現していない。したがって, 遺伝子異常を蓄積して腫瘍化した ATL 細胞を対象とした詳細な解析から, 腫瘍化にかかわる分子機構を明らかにする作業が不可欠である。癌の発症機構の理解には, 腫瘍細胞内に蓄積された遺伝子異常の実態と, 発現する遺伝子の包括的把握が必須である。今後は, 包括的なゲノム異常および遺伝子発現異常のデータベースを基盤とした知見を整理して, 腫瘍化にかかわる遺伝子異常の実体を解明することが可能になってきた。治療法に関しては, 画期的抗体療法の臨床応用が現実になりつつあるが, すでに検討されている多くの薬物に関して ATL についての有効性を組織的に検証するとともに, 新たな視点に基づく低分子化合物のスクリーニングも進める必要があると考える。これらの解析を通じて, 腫瘍化を特徴づけるバイオマーカーの同定と, それに基づく早期診断, 発症予防および新たな分子標的治療法の開発が期待される。

文 献

- 1) 厚生労働科学研究費補助金「本邦における HTLV-1 感染および関連疾患の実態調査と総合対策」平成 20 年度 研究総括報告書 (研究代表者 山口一成)

- 2) 菊池 博：ATLの病態と診断，HTLV-1と疾患，p16-29，渡邊俊樹，上平 憲，山口一成編，文光堂，東京，2007.
- 3) 厚生労働科学研究費補助金「本邦におけるHTLV-1感染および関連疾患の実態調査と総合対策」平成21年度 研究総括報告書（研究代表者 山口一成）
- 4) 渡邊俊樹：HTLV-1の分子生物学：基礎と臨床をつなぐもの，HTLV-1と疾患，p166-177，渡邊俊樹，上平 憲，山口一成編，文光堂，東京，2007.
- 5) Satou Y, Yasunaga J, Yoshida M *et al.* : HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 : 720, 2006.
- 6) Fukuda R, Hayashi A, Utsunomiya A *et al.* : Alteration of phosphatidylinositol 3-kinase cascade in the multilobulated nuclear formation of adult T cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 15213, 2005.
- 7) Kamihira S, Sohda H, Atogami S *et al.* : Phenotypic diversity and prognosis of adult T-cell leukemia. *Leukemia Res* 16 : 435, 1992.
- 8) Tian Y, Kobayashi S, Ohno N *et al.* : Leukemic T cells are specifically enriched in a unique CD3 (dim) CD7 (low) subpopulation of CD4 (+) T cells in acute-type adult T-cell leukemia. *Cancer Sci* 102 : 569, 2011.
- 9) Chen S, Ishii N, Ine S *et al.* : Regulatory T cell-like activity of Foxp3⁺ adult T cell leukemia cells. *Int Immunol* 18 : 269, 2006.
- 10) Matsubar Y, Hori T, Morita R *et al.* : Delineation of immunoregulatory properties of adult T-cell leukemia cells. *Int J Hematol* 84 : 63, 2006.
- 11) Shimauchi T, Kabashima K, Tokura Y : Adult T-cell leukemia/lymphoma cells from blood and skin tumors express cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and Foxp3 but lack suppressor activity toward autologous CD8⁺ T cells. *Cancer Sci* 99 : 98, 2008.
- 12) Abe M, Uchihashi K, Kazuto T *et al.* : Foxp3 expression on normal and leukemic CD4⁺CD25⁺ T cells implicated in human T-cell leukemia virus type-1 is inconsistent with Treg cells. *Eur J Haematol* 81 : 209, 2008.
- 13) Okamoto T, Ohno Y, Tsugane S *et al.* : Multi-step carcinogenesis model for adult T-cell leukemia. *Jpn J Cancer Res* 80 : 191-195, 1989.
- 14) Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A *et al.* : Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node. *Blood* : prepublished online March 29, 2011.
- 15) Pichler K, Schneider G, Grassmann R : MicroRNA miR-146a and further oncogenesis-related cellular microRNAs are dysregulated in HTLV-1-transformed T lymphocytes. *Retrovirology* 5 : 100, 2008.
- 16) Yeung ML, Yasunaga J, Bennasser Y *et al.* : Roles for microRNAs, miR-93 and miR-130b, and tumor protein 53-induced nuclear protein 1 tumor suppressor in cell growth dysregulation by human T-cell lymphotropic virus 1. *Cancer Res* 68 : 8976, 2008.
- 17) Bellon M, Lepelletier Y, Hermine O *et al.* : Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-I adult T-cell leukemia. *Blood* 113 : 4914, 2009.
- 18) Uozumi K : Treatment of adult T cell leukemia. *J Clin Exp Hematopathol* 50 : 1, 2010.
- 19) Tsukasaki K, Hermine O, Bazarbachi A *et al.* : Definition, prognostic factors, treatment and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma : A proposal from an international consensus meeting. *J Clin Oncol* 27 : 453, 2009.
- 20) Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K *et al.* : Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 28 : 1591, 2010.

* * *

Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in the lymph nodes

Akira Umino,^{1,2} Masao Nakagawa,¹ Atae Utsunomiya,³ Kunihiro Tsukasaki,⁴ Naoya Taira,⁵ Naoyuki Katayama,² and Masao Seto^{1,6}

¹Division of Molecular Medicine, Aichi Cancer Center Research Institute, Nagoya, Japan; ²Hematology and Oncology, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu, Japan; ³Department of Hematology, Imamura Bun-in Hospital, Kamoikeshinmachi, Kagoshima, Japan; ⁴Department of Hematology and Molecular Medicine Unit, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan; ⁵Department of Internal Medicine, Heartlife Hospital, Okinawa, Japan; and ⁶Department of Cancer Genetics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Chikusa-ku, Nagoya, Japan

Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) is the neoplasm caused by human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1). We performed oligo-array comparative genomic hybridization (CGH) against paired samples comprising peripheral blood (PB) and lymph node (LN) samples from 13 patients with acute ATLL. We found that the genome profiles of the PB frequently differed from those of the LN samples. The results showed that 9 of

13 cases investigated had a log₂ ratio imbalance among chromosomes, and that chromosome imbalances were more frequent in LN samples. Detailed analysis revealed that the imbalances were likely caused by the presence of multiple subclones in the LN samples. Five of 13 cases showed homozygous loss regions in PB samples, which were not found in the LN samples, indicating that tumors in the PB were derived from LN

subclones in most cases. Southern blot analysis of TCR γ showed that these multiple subclones originated from a common clone. We concluded that in many ATLL cases, multiple subclones in the LNs originate from a common clone, and that a selected subclone among the LN subclones appears in the PB. (*Blood*. 2011;117(20):5473-5478)

Introduction

Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) is the neoplasm caused by human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1). The disease is associated with poor prognosis due to drug resistance, the occurrence of opportunistic infections, a large tumor burden with multi-organ failure, and hypercalcemia. Shimoyama et al¹ classified ATLL into 4 subtypes: smoldering, chronic, lymphoma, and acute. It is also known that HTLV-1 infection alone does not facilitate the progress of infected CD4⁺ T cells to fully malignant ATLL cells. Therefore, the search for genes involved in ATLL development and for the specific genes involved in each ATLL type has been actively pursued, albeit with limited success. ATLL-specific chromosomal abnormalities have yet to be found; however, a frequent abnormality found in ATLL is 14q11, which has also been found in other types of T-cell malignancies.^{2,3} HTLV-1 provirus integration sites have also been extensively sought, and the sites identified were found to be randomly located. Investigations relying on G-band and fluorescence in situ hybridization analyses have not been fruitful in providing a detailed delineation of the genomic aberrations involved.⁴ The use of high-resolution, array-based comparative genomic hybridization (CGH) for comprehensive chromosome analysis should prove useful in the search for genomic aberrations. We showed previously that acute and lymphoma ATLL types possess distinct genomic profiles, as determined by bacterial artificial chromosome array CGH.⁵ It should be noted, however, that when lymphoma-type ATLL progresses to manifest more than 2% flower cells in the peripheral blood (PB), it is then classified as the acute type. We set out to analyze the

genomic aberrations of acute-type ATLL with paired PB and lymph node (LN) samples in more detail by oligo-array CGH.

An important factor in the diagnosis of ATLL is the identification of monoclonal integration of HTLV-1. It has been reported that the same HTLV-1-infected clone was detected over several years in a chronic-type ATLL patient.^{6,7} These types of HTLV-1-infected CD4⁺ T lymphocytes are believed to accumulate various changes during an extensive latency period of over 50 years.⁸ Alterations in genomic copy number represent one example of the type of accumulated genomic changes that can occur. In the present study, we performed high-resolution oligo-array CGH (Agilent Technologies) using a 44 000-probe set against paired samples obtained from the PB and LNs of 13 patients with acute-type ATLL.

Methods

ATLL patients and cell lines

We conducted a survey of genomic profiles by examination of PB and LN samples taken from 13 patients with acute-type ATLL. Paired samples were collected from each patient within 14 days of diagnosis. The PB and LN samples, together with clinical data, were obtained from 13 patients under a protocol approved by the institutional review board of the Aichi Cancer Center. Informed consent was provided according to the Declaration of Helsinki. Patients were diagnosed from those hospitalized between 1988 and 2010 at Imamura-Bunin Hospital and Nagasaki University School of Medicine. The diagnosis of ATLL was based on clinical features, hematologic characteristics, immunophenotype, and the presence of serum antibodies to ATLL-associated antigens. The median age of the patients was

Submitted December 26, 2010; accepted March 11, 2011. Prepublished online as *Blood* First Edition paper, March 29, 2011; DOI 10.1182/blood-2010-12-327791.

The online version of this article contains a data supplement.

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. Therefore, and solely to indicate this fact, this article is hereby marked "advertisement" in accordance with 18 USC section 1734.

© 2011 by The American Society of Hematology