

- (1) HTLV-I 感染が成立するラットの HTLV-I 感染系（腹腔・経口・経直腸感染）を用いて、感染防御を目的とする新規ワクチンの評価系を作成した。
- (2) LAT-27 抗体を受動免疫することにより、腹腔内接種による HTLV-I 新規感染を効率良く防御できることを示した。
 - ・ 研究分担者(齊藤・高橋)：ヒト化マウスでの HTLV-I 感染系 とヒト免疫誘導系の開発
- (1) 高度免疫不全マウス (NOD/SCID/ γ Cnull : NOG) の脾臓内にヒト末梢血単核球 (PBMC) とマイトマイシン C 処理した HTLV-I 感染 T 細胞株 (ILT-M1) を同時移植し、2 週間後にはマウス体内でヒト T 細胞に HTLV-I 感染が成立することを確認した。
- (2) この系で、自家製抗 HTLV-I 中和モノクローナル抗体 LAT-27 は、マウス体内においてヒト T 細胞への HTLV-I 感染を完全に抑制した。さらに、HTLV-I 感染患者由来 IgG も同様に感染防御活性を示すことを確認した。
 - ・ 研究分担者(伊藤)：ヒト化用マウス系統の開発と供給
- (1) 超免疫不全マウス NOD/SCID/ γ Cnull (NOG) マウスの計画生産を行い提供した。
- (2) これら免疫不全マウスをプラットフォームにして IL-2 を導入した NOG マウスの作製を試み、血清中に hIL-2 を分泌する免疫不全マウスを得ることができた。
- (3) ヒト末梢血単核球を移入すると、NOG マウスと比較して、強い GVHD で死亡することが明らかとなった。これは、移入した T 細胞が hIL-2 により活性化することによると考えられ、このマウスへの HTLV-I 感染への高い感受性が示唆された。
- (4) さらに、抗体依存性細胞障害性を見る系として、血液幹細胞を移植すると単球と NK 細胞が増殖する hGM-CSF/IL-3-NOG マウスを確立した。
 - ・ 研究分担者(上里)：HTLV-I 産生株の樹立、細胞内 HTLV-I 感染抵抗性因子の研究と応用
- (1) 皮膚科の ATL 患者の血液細胞の培養により、新規の HTLV-I 産生培養株を樹立した。
- (2) 治療による ATL 患者の中和抗体の動向を検討するため血清サンプルを蓄積中である。
 - ・ 研究分担者(樋口)：細胞内 HTLV-I 感染抵抗性因子の研究と応用
- (1) HTLV-I Tax の結合蛋白として Ubiquitin Specific Protease 10 (USP10) を同定した。
- (2) USP10 結合蛋白を網羅的に検索したところ、G3BP1 が同定された。
- (3) Tax は USP10 に結合することにより、ストレス顆粒形成を阻害することを解明した。
- (4) HTLV-I 感染細胞の亜硫酸感受性について、ストレス顆粒形成不全による ROS 産生制御異常という観点から研究を試みている。
 - ・ 研究分担者(松崎・新川)：小動物での HTLV-I ワクチン検証と HTLV-I 粘膜ワクチンの開発
- (1) 三部構成免疫賦活複合体 (TIPS) は、①抗原、②コイルドコイルコア、③標的リガンドの三部から構成されるが、今回、HTLV-I 感染に対する防御エピトープ (gp46₁₈₀₋₂₀₄) を搭載した TIPS を設計するため、まず始めに 5 量体コイルドコイル構造形成タンパク質 (COMP) と標的リガンド (B 細胞レセプター (Ig) と結合するプロテイン A 由来の Z ドメイン) を融合タンパク質として大腸菌で発現させた。
- (2) TIPS/gp46 pep が大腸菌から 5 量体として分泌発現することが確認され、Z の抗体結合機能があることも確認した。
- (3) この融合分子を BALB/c および C57BL/6 マウスヘアラムアジュバントを添加して皮下接種した結果、OVA/HTLV-Igp46 pep は以前の報告どおり、エピトープ特異的な抗体応答を誘導した。しかし、TIPS/HTLV-Igp46 pep では抗体応答が確認できなかった。これまで、比較的分子量の大きな抗原 (20 kDa 程度) では TIPS の効果が確認されていることから、エピトープへの応用の面では更なる工夫が必要であると考察した。

IV. 平成 25 年度の課題

- (1) 上述のようにこれまでの研究で HTLV-I 感染防御評価実験系の確立と改良を行い、我々が HTLV-I 感染防御のために標的とすべき HTLV-I の抗原はエンベロープ gp46 であることを導きだした。これらの研究基盤に立脚して、3 年目の研究で重点的に研究するのは、中和抗体誘導能の高いワクチン候補の開発と抗 HTLV-Igp46 中和抗体を用いた受動免疫の評価である。
- (2) 加えて、3 年間の総括として本研究成果を次の臨床試験へのステップへと継承させるために具体的な

提案を創発する。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 本研究で得られた成果を公開することにより、HTLV-I ワクチン開発に関する具体的な可能性が示されるので、国策としての HTLV-I 感染拡大の阻止対策に貢献できると考えている。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

(平成24年度の研究に関連する成果を発表する論文を含めた。)

A. 研究代表者

- (1) Nicolete LD, Nicolete R, Haddad R, Azevedo R, Castro FA, Tanaka Y, Takayanagui OM, Covas DT, Kashima S. Upregulation of hsa-miR-125b in HTLV-1 asymptomatic carriers and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012 107(6):824-7.
- (2) Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto, S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci.* 2012 103(10):1764-73.
- (3) Hasui K, Wang J, Tanaka Y, Izumo S, Eizuru Y, Matsuyama T. Development of ultra-super sensitive immunohistochemistry and its application to the etiological study of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Acta Histochem Cytochem.* 2012 45(2):83-106.
- (4) Lee SJ, Lee JS, Shin MG, Tanaka Y, Park DJ, Kim TJ, Park YW, Lee SS. Detection of HTLV-1 in the labial salivary glands of patients with Sjogren's syndrome: a distinct clinical subgroup? *J Rheumatol.* 2012 39(4):809-15.
- (5) Enose-Akahata Y, Matsuura E, Tanaka Y, Oh U, Jacobson S. Minocycline modulates antigen-specific CTL activity through inactivation of mononuclear phagocytes in patients with HTLV-I associated neurologic disease. *Retrovirology.* 2012 9:16.

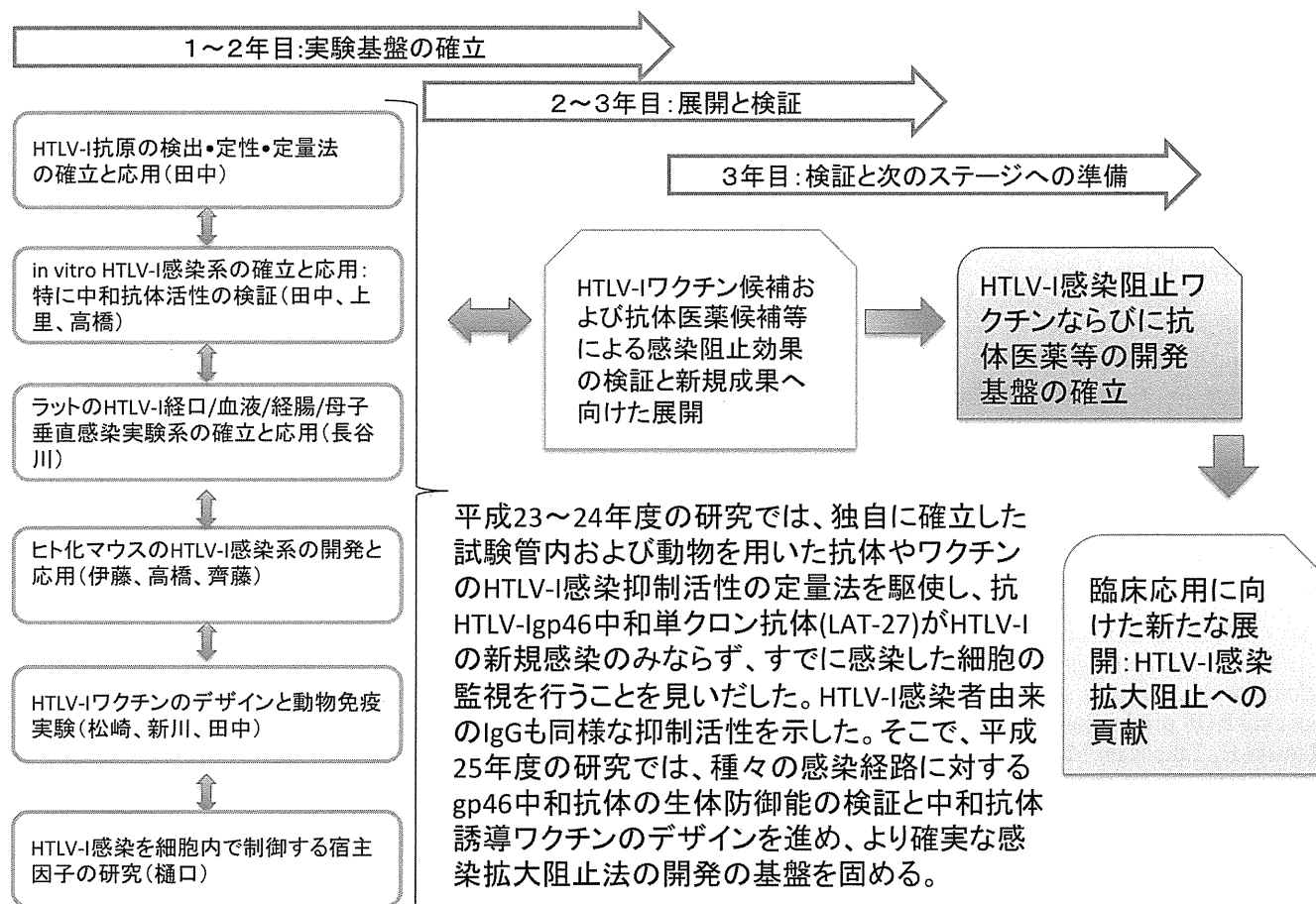
B. 研究分担者

- (1) Kannagi M, Hasegawa A, Takamori A, Kinpara S, Utsunomiya A. The roles of acquired and innate immunity in human T-cell leukemia virus type 1-mediated diseases. *Front Microbiol.* 2012, 3:323.
- (2) Takahashi M, Higuchi M, Matsuki H, Yoshita M, Ohsawa T, Oie M, Fujii M. Stress granules inhibit apoptosis by reducing ROS production. *Mol. Cell Biol.* In press.
- (3) Matuski H, Takahashi M, Higuchi M, Makokha GN, Oie M, Fujii M. Both G3BP1 and G3BP2 contribute to stress granule formation. *Genes Cells.* In press.
- (4) Yoshita M, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Fujii M. Activation of mTOR by human T-cell leukemia virus type 1 Tax is important for the transformation of mouse T cells to interleukin-2-independent growth. *Cancer Sci.* 2012, 103(2):369-74
- (5) Ito, R., T. Takahashi, I. Katano, and M. Ito. Current advances in humanized mouse models. *Cell Mol Immunol.* 2012. 9:208-214.
- (6) Ito, R., I. Katano, M. Ida-Tanaka, T. Kamisako, K. Kawai, H. Suemizu, S. Aiso, and M. Ito. Efficient Xenoengraftment in Severe Immunodeficient NOD/Shi-scid IL2R γ null Mice Is Attributed to a Lack of CD11c+B220+CD122+ Cells. *J Immunol* 2012. 189:4313-4320.
- (7) Imai M, Higuchi M, Kawamura H, Yoshita M, Takahashi M, Oie M, Matsuki H, Tanaka Y, Aoyagi Y, Fujii M. Human T cell leukemia virus type 2 (HTLV-2) Tax2 has a dominant activity over HTLV-1 Tax1 to immortalize human CD4(+) T cells. *Virus Genes.* 2012 in press
- (8) Suzuki, M., T. Takahashi, I. Katano, R. Ito, M. Ito, H. Harigae, N. Ishii, and K. Sugamura. Induction of human humoral immune responses in a novel HLA-DR-expressing transgenic NOD/Shi-scid/gammanull mouse. *Int Immunol.* 2012. 24:243-252.
- (9) Sato, K., N. Misawa, M. Fukuhara, S. Iwami, D. S. An, M. Ito, and Y. Koyanagi. Vpu augments the initial burst phase of HIV-1 propagation and downregulates BST2 and CD4 in humanized mice. *J Virol.* 2012. 86:5000-5013.
- (10) Saito M, Bangham CR. Immunopathogenesis of human T-cell leukemia virus type-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: recent perspectives. *Leuk Res Treatment.* 2012:259045.
- (11) Saito M, Jain P, Tsukasaki K, Bangham CR. HTLV-1 Infection and Its Associated Diseases. *Leuk Res Treatment.* 2012:123637. doi: 10.1155/2012/123637.

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。

HTLV-I感染拡大を阻止するワクチンならびに抗体医薬等の開発基盤の確立(2年間成果概要)



●研究代表者の研究歴等

・ 過去に所属した研究機関の履歴

- 昭和55年～58年 京都大学 ウイルス研究所 (大学院博士課程)
 昭和58年～平成5年 北里大学 衛生学部 (助手:昭和58年～、講師:平成3年～)
 昭和60年～63年 米国ペンシルバニア大学 医学部 (ポストドク)
 平成5年～11年 北里大学 理学部 (助教授)
 平成11年～現在 琉球大学 大学院医学研究科 (教授)

・ 主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・ 指導を受けた研究者
- 日沼頼夫 (文化勲章受章者、京都大学名誉教授)
- 菅村和夫 (前東北大学医学部長、前日本免疫学会会長、宮城県立がんセンター研究所総長)
- 山本直樹 (前国立感染症研究所エイズ研究センター長、国立シンガポール大学教授)
- Tevethia, SS(前米国ペンシルバニア州立大学教授)
- Rapp, F(元米国ペンシルバニア州立大学教授)
- 戸澤秀樹 (前北里大学教授)

・ 主な共同研究者

- Ansari, AA(米国エモリー大学教授)
 Bangham, CRM (ロンドン王立大学教授)
 小柳義夫 (京都大学ウイルス研究所教授)
 神奈木真理 (東京医科歯科大学教授)
 山本直樹 (前国立感染症研究所エイズ研究センター長、現国立シンガポール大学教授)

・ 主な研究課題

HTLV-I および HIV-1 感染に対する生体防御の研究と応用

・ これまでの研究実績

研究代表者 (田中勇悦) 最近の論文 (2009~現在まで、それ以前は割愛した)

- (1) Shibata Y, Oyama M, Kozuka-Hata H, Han X, Tanaka Y, Gohda J, Inoue J. p47 negatively regulates IKK activation by inducing the lysosomal degradation of polyubiquitinated NEMO. *Nat Commun.* 2012 ;3:1061.
- (2) Imai M, Higuchi M, Kawamura H, Yoshita M, Takahashi M, Oie M, Matsuki H, Tanaka Y, Aoyagi Y, Fujii M. Human T cell leukemia virus type 2 (HTLV-2) Tax2 has a dominant activity over HTLV-1 Tax1 to immortalize human CD4(+) T cells. *Virus Genes.* 2012, in press
- (3) Kamiyama H, Kakoki K, Shigematsu S, Izumida M, Yashima Y, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Sano T, Shidoji Y, Kubo Y. CXCR4-Tropic, But Not CCR5-Tropic, Human Immunodeficiency Virus Infection Is Inhibited by the Lipid Raft-Associated Factors, Acyclic Retinoid Analogs, and Cholera Toxin B Subunit. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012, in press
- (4) Nicolete LD, Nicolete R, Haddad R, Azevedo R, Castro FA, Tanaka Y, Takayanagui OM, Covas DT, Kashima S. Upregulation of hsa-miR-125b in HTLV-1 asymptomatic carriers and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107(6): 824-7.
- (5) Hasui K, Wan J, Tanaka Y, Izumo S, Eizuru Y, Matsuyama T. Development of ultra-super sensitive immunohistochemistry and its application to the etiological study of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Acta Histochem Cytochem.* 2012; 45(2): 83-106.
- (6) Enose-Akahata Y, Matsuura E, Tanaka Y, Oh U, Jacobson S. Minocycline modulates antigen-specific CTL activity through inactivation of mononuclear phagocytes in patients with HTLV-I associated neurologic disease. *Retrovirology.* 2012; 9: 16.
- (7) Lee SJ, Lee JS, Shin MG, Tanaka Y, Park DJ, Kim TJ, Park YW, Lee SS. Detection of HTLV-1 in the Labial Salivary of Patients with Sjogren's Syndrome: A Distinct Clinical Subgroup? *J Rheumatol.* 2012; 39(4): 809-815.
- (8) Yoshita M, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Fujii M. Activation of mTOR by human T-cell leukemia virus type 1 Tax is important for the transformation of mouse T cells to interleukin-2-independent growth. *Cancer Sci.* 2012;

- 103(2): 369-374.
- (9) Kitazono T, Okazaki T, Araya N, Yamano Y, Yamada Y, Nakamura T, Tanaka Y, Inoue M, Ozaki S. Advantage of higher-avidity CTL specific for Tax against human T-lymphotropic virus-1 infected cells and tumors. *Cell Immunol.* 2011; 272(1): 11-17.
- (10) Adachi T, Tanaka R, Kodama A, Saito M, Takahashi Y, Ansari AA, Tanaka Y. Identification of an unique CXCR4 epitope whose ligation inhibits infection by both CXCR4 and CCR5 tropic human immunodeficiency type-I viruses. *Retrovirology.* 2011; 8: 84.
- (11) Shibata Y, Tanaka Y, Gohda J, Inoue J. Activation of the I κ B kinase complex by HTLV-1 Tax requires cytosolic factors involved in Tax-induced polyubiquitination. *J Biochem.* 2011; 150(6): 679-686.
- (12) Alberti C, Cartier L, Valenzuela MA, Puente J, Tanaka Y, Ramirez E. Molecular and clinical effects of betamethasone in human T-cell lymphotropic virus type-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients. *J Med Virol.* 2011; 83(9): 1641-1649.
- (13) Ndhlovu LC, Leal FE, Hasenkrug AM, Jha AR, Carvalho KI, Eccles-James IG, Bruno FR, Vieira RG, Tork VA, Chew GM, Jones RB, Tanaka Y, Neto WK, Sanabani SS, Ostrowski MA, Segurado AC, Nixon DF, Kallas EG. HTLV-1 Tax specific CD8⁺ T cells express low levels of Tim-3 in HTLV-1 infection: Implications for progression to neurological complications. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(4):e1030.
- (14) Belrose G, Gross A, Olindo S, Lazin A, Dueymes M, Komla-Soukha I, Smadja D, Tanaka Y, Willems L, Mesnard JM, Peloponese JM Jr, Casaire R. Effects of valproate on Tax and HBZ expression in HTLV-1 and HAM/TSP T lymphocytes. *Blood.* 2011;118(9):2483-2491.
- (15) Rende F, Cavallari I, Corradin A, Silic-Benussi M, Toulza F, Toffolo GM, Tanaka Y, Jacobson S, Taylor GP, D'Agostino DM, Bangham CR, Ciminale V. Kinetics and intracellular compartmentalization of HTLV-1 gene expression: nuclear retention of HBZ mRNA. *Blood.* 2011;117(18):4855-59.
- (16) Yoshii H, Kamiyama H, Goto K, Oishi K, Katunuma N, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y. CD4-independent human immunodeficiency virus infection involves participation of endocytosis and cathepsin B. *PLoS One.* 2011; 6(4): e19352.
- (17) Abdelbary NH, Abdullah HM, Matsuzaki T, Hayashi D, Tanaka Y, Takashima H, Izumo S, Kubota R. Reduced Tim-3 Expression on Human T-lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Tax-specific Cytotoxic T Lymphocytes in HTLV-I Infection. *J Infect Dis.* 2011;203(7):948-59.
- (18) Pedroza-Gonzalez A, Xu K, Wu TC, Asford C, Tindle S, Marches F, Gallegos M, Burton EC, Savino D, Hori T, Tanaka Y, Zurawski S, Zurawski G, Bover L, Liu YJ, Banchereau J, Palucka AK. Thymic stromal lymphopoietin fosters human breast tumor growth by promoting type 2 inflammation. *J Exp Med.* 2011;208(3):479-90.
- (19) Oh U, McCormick MJ, Datta D, Turner RV, Bobb K, Monie DD, Sliskovic DR, Tanaka Y, Zhang J, Meshulam J, Jacobson S. Inhibition of immune activation by a novel nuclear factor-kappa B inhibitor in HTLV-1 associated neurologic disease. *Blood.* 2011;117(12):3363-69.
- (20) Tsuruno C, Okuma K, Takahashi Y, Tanaka R, Tanaka Y, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hamaguchi I, Yamaguchi K. A recombinant vesicular stomatitis virus encoding HIV-1 receptors and human OX40 ligand efficiently eliminates HIV-1-infected CD4-positive T cells expressing OX40. *Human Immunology.* 2011;72(4):295-304.
- (21) Hieshima K, Nagakubo D, Shigeta A, Tanaka Y, Hoshino H, Tsukasaki K, Yamada Y, Yoshie O. c-Maf suppresses human T-cell leukemia virus type 1 Tax by competing for CREB-binding protein. *Cancer Sci.* 2011;102(4):890-94.
- (22) Yamamoto K, Ishida T, Nakano K, Yamagishi M, Yamochi T, Tanaka Y, Furukawa Y, Nakamura Y, Watanabe T. SMYD3 interacts with HTLV-1 Tax and regulates subcellular localization of Tax. *Cancer Sci.* 2011;102(1):260-6.
- (23) Tanaka R, Takahashi Y, Kodama A, Saito M, Ansari AA, Tanaka Y. Suppression of CCR5-tropic HIV type 1 infection by OX40 stimulation via enhanced production of β -chemokines. *AIDS Research and Human Retroviruses.* 2010; 26(10): 1147-54.
- (24) Toulza F, Nosaka K, Tanaka Y, Schioppa T, Balkwill F, Taylor GP, Bangham CR. Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Induced CC Chemokine Ligand 22 Maintains a High Frequency of Functional FoxP3⁺ Regulatory T Cells. *J Immunol.* 2010;185(1):183-9.
- (25) Sato K, Nie C, Misawa N, Tanaka Y, Ito M, Koyanagi Y. Dynamics of memory and naïve CD8⁺ T lymphocytes in humanized NOD/SCID/IL-2R γ^{null} mice infected with CCR5-tropic HIV-1. *Vaccine.* 28S: B32-7, 2010.
- (26) Tanaka M, Sun B, Tezuka K, Fujisawa JI, Tanaka Y, Hoshino H, Miwa M. Neuraminidase enhances the initial steps of human T-cell leukemia virus type 1 replication. *Microbes Infect.* 2010;12:119-25.
- (27) Kodama A, Tanaka R, Zhang LF, Adachi T, Saito M, Ansari AA, Tanaka Y. Impairment of in vitro generation of monocyte-derived human dendritic cells by inactivated HIV-1: involvement of type-1 interferon produced from plasmacytoid dendritic cells. *Human Immunology.* 2010;71:541-550.
- (28) Aoyagi T, Takahashi M, Higuchi M, Oie M, Tanaka Y, Kiyono T, Aoyagi Y, Fujii M. The PDZ domain binding motif (PBM) of human T-cell leukemia virus type 1 Tax can be substituted by heterologous PBMs from viral oncoproteins during T-cell transformation. *Virus Genes.* 2010;40:193-99.
- (29) Ghez D, Renand A, Lepelletier Y, Sidon D, Suarez F, Rubio MT, Delarue R, Buzyn A, Beljord K, Tanaka Y, Varet B, Hermine O. Tax unleashed: fulminant Tax-positive Adult T-cell Leukemia/Lymphoma after failed allogeneic stem cell

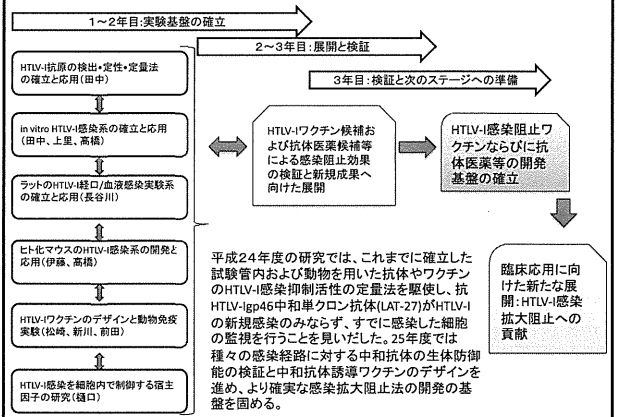
- transplantation. *J Clin Virol.* 2009;46:378-80.
- (30) Xu Z, Hurchla MA, Deng H, Uluckan O, Bu F, Berdy A, Eagleton MC, Heller EA, Floyd DH, Dirksen WP, Shu S, Tanaka Y, Fernandez SA, Rosol TJ, Weilbaecher KN. Interferon-gamma targets cancer cells and osteoclasts to prevent tumor-associated bone loss and bone metastases. *J Biol Chem.* 2009;284:4658-66.
- (31) Nie C, Sato K, Misawa N, Kitayama H, Fujino H, Hiramatsu H, Heike T, Nakahata T, Tanaka Y, Ito M, Koyanagi Y. Selective infection of CD4+ effector memory T lymphocytes leads to preferential depletion of memory T lymphocytes in R5 HIV-1-infected humanized NOD/SCID/IL-2R γ mannull mice. *Virology.* 2009 ;394:64-72.
- (32) Shoji T, Higuchi M, Kondo R, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Aoyagi Y, Fijii M. Identification of a novel motif responsible for the distinctive transforming activity of human T-cell leukemia virus(HTLV) type 1 Tax1 protein from HTLV-2 Tax2. *Retrovirology* 2009;6:83.
- (33) Nejmeddine M, Negi VS, Mukherjee S, Tanaka Y, Orth K, Taylor GP, Bangham CR. HTLV-1-Tax and ICAM-1 act on T-cell signal pathways to polarize the microtubule-organizing center at the virological synapse. *Blood.* 2009;114:1016-25.
- (34) Kattan T, MacNamara A, Rowan AG, Nose H, Mosley AJ, Tanaka Y, Taylor GP, Asquith B, Bangham CR. The avidity and lytic efficiency of the CTL response to HTVL-1. *J Immunol.* 2009;182:5723-29.
- (35) Ohba K, Ryo A, Dewan MZ, Nishi M, Naito T, Qi X, Inagaki Y, Nagashima Y, Tanaka Y, Okamoto T, Terashima K, Yamamoto N. Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication in monocytes/macrophages through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand 1. *J Immunol.* 2009;183:524-32.
- (36) Toulza F, Nosaka K, Takiguchi M, Pagliuca T, Mitsuya H, Tanaka Y, Taylor GP, Bangham CR. FoxP3(+) regulatory T cells are distinct from leukemia cells in HTLV-1-associated adult T-cell leukemia. *Int J Cancer.* 2009;125:2375-82.
- (37) Murakami T, Kumakura S, Yamazaki T, Tanaka R, Hamatake M, Okuma K, Huang W, Toma J, Komano J, Yanaka M, Tanaka Y, Yamamoto N. The novel CXCR4 antagonist KRH-3955 is an orally bioavailable and extremely potent inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 infection: comparative studies with AMD3100. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2940-48.
- (38) Kamiyama H, Yoshii H, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y. Raft localization of CXCR4 is primarily required for X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection. *Virology.* 2009;386:23-31

HTLV-I感染拡大を阻止するワクチンならびに
抗体医薬等の開発基盤の確立

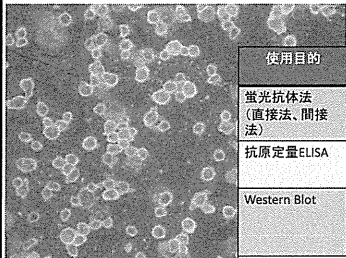
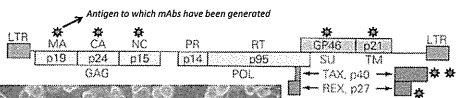
琉球大学大学院医学研究科免疫学講座 田中勇悦

- 現在、我が国のHTLV-I感染者数は未だ100万人を超えると推定され、特に大都市部では感染者の増加が問題となっている。
- これまでHTLV-I感染拡大を阻止するワクチンは開発されていない。

HTLV-I感染拡大を阻止するワクチンならびに抗体医薬等の開発基盤の確立(2年目成果概要)



HTLV-I やATL細胞に対する特異的抗体ライブラリー

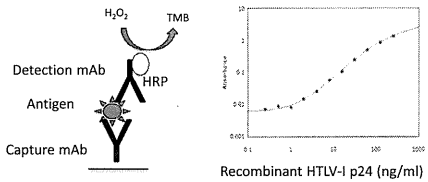


HTLV-I感染細胞の可視化

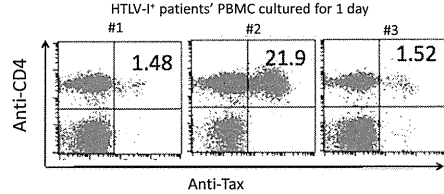
使用目的	HTLV-Iウイルス抗原	HTLV-I 感染細胞 ATL細胞
蛍光抗体法 (直接法、間接法)	p19, p24, gp21, gp46, Tax, HBZ	CD25, OX40, OX40L
抗原定量ELISA	p19, p24, gp46, Tax	CD25, OX40, OX40L
Western Blot	p19, p24, gp46, Tax, p27rex, HBZ	CD25, OX40, OX40L
HTLV-I感染中和	gp46 (LAT-27, Tanaka 1991)	

HTLV-I抗原の定量

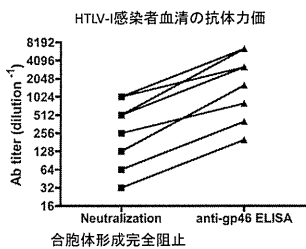
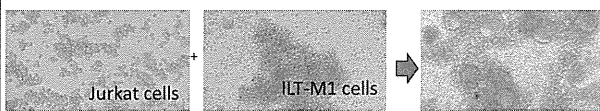
(1) Direct ELISA



(2) Flowcytometry

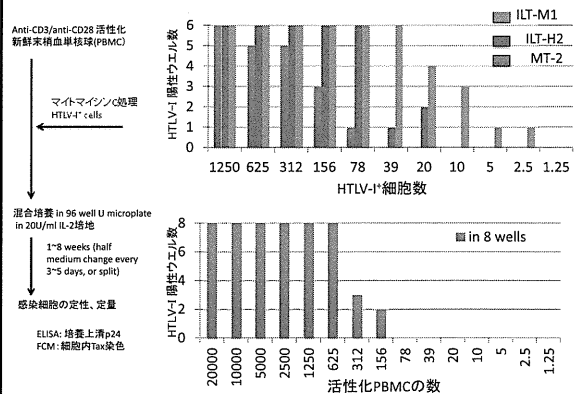


HTLV-I合胞体形成の中和

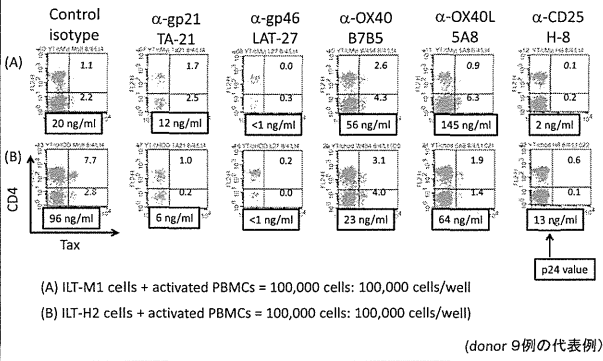


合胞体形成完全阻止

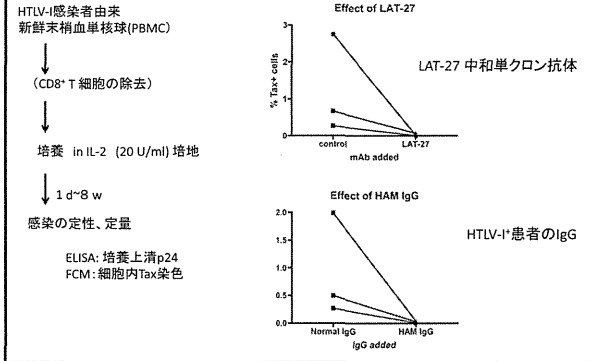
HTLV-I不活化中和



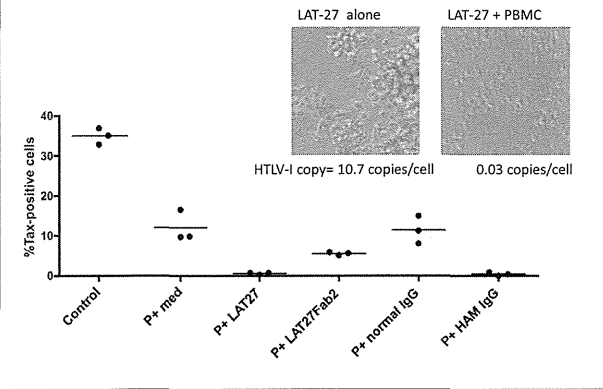
抗gp46中和単クローン抗体LAT-27はHTLV-I-T細胞の不死化を阻害する (4w co-cultivation)



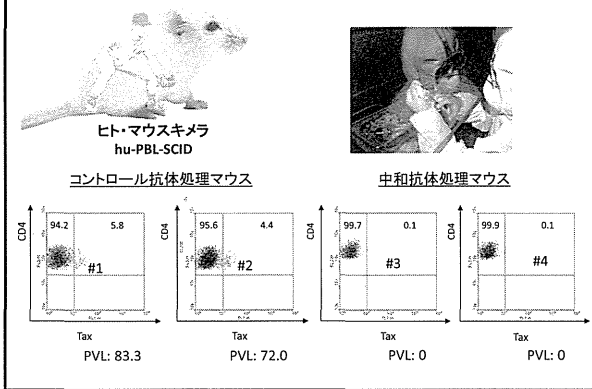
中和単クローン抗体と中和活性を持つHTLV-I⁺患者のIgGは、HTLV-I感染者PBMCからのHTLV-I細胞不死化/増殖を阻止する



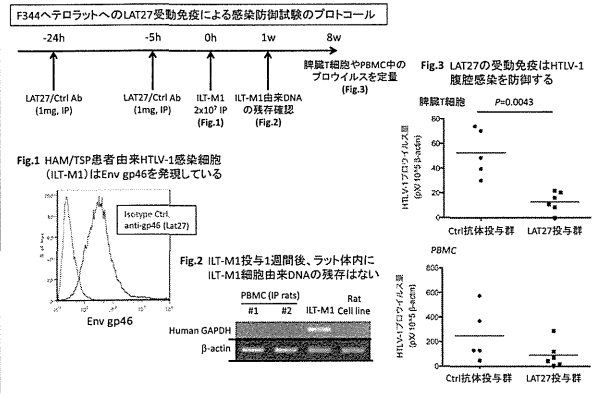
抗HTLV-I gp46単クローン抗体は新鮮自家PBMC存在下、Fc依存性にHTLV-I感染細胞株の増殖を阻止する



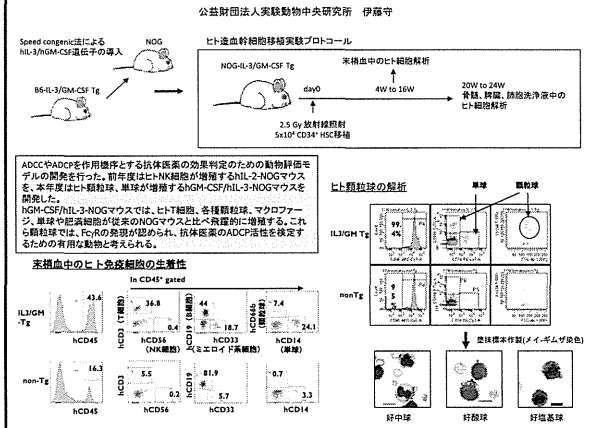
ヒト化マウスhu-PBL-NOGでのHTLV-I感染中和



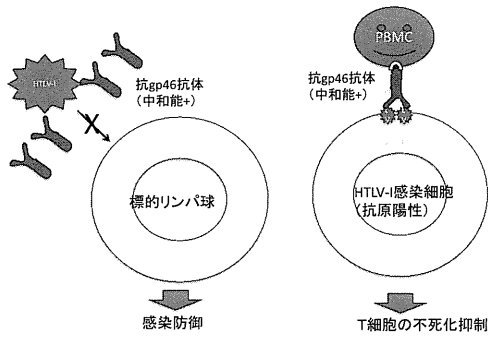
～ラットのHTLV-1経口・経腸・血液感染系の確立と応用～
 抗HTLV-1 gp46中和抗体LAT27の受動免疫によるin vivoでの感染防御効果



「ヒト化マウス系統の開発と供給」 hGM-CSF/hIL-3を発現するNOGマウスを開発



HTLV-Igp46抗体を介する感染防御



- (1) 抗gp46単クロン抗体のヒト化
- (2) gp46に対する抗体の産生誘導ワクチンの作製

平成 24 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題：プロウイルスゲノム破壊による革新的HTLV-1 関連疾患発症遅延法の開発

課題番号：H23-新興-一般-028

予定期間：H23 年度から H25 年度まで

研究代表者：駒野 淳

所属研究機関：大阪府立公衆衛生研究所

所属部局：感染症部ウイルス課

職名：主任研究員

年次別研究費(交付決定額)：1年目 12,000,000 円 2年目 10,428,000 円

I. 研究の意義

- (1) 病態進展を防止する方法が存在しない HTLV-1 感染症に具体案を提供。
- (2) 治療より発症防止の方が感染者の身体的負担は小さいうえ、社会経済的観点からもメリットがある。
- (3) 本治療法の原理は HTLV-1 プロウイルスゲノム破壊であるため、病態の進行を遅延させるだけでなく、感染者から放出される感染性ウイルスの量も減少させることも期待される。従って、ウイルス伝播を食い止める効果も期待できる。
- (4) 根本治療にも応用できる本研究は、基礎研究における概念の立証だけでも HTLV-1 感染者に大きな希望を与える。
- (5) 本技術と末梢血幹細胞移植および遺伝子治療を組み合わせることにより、治療抵抗性として知られる ATL に対し、新たな治療法を提供することもできる。
- (6) 治療分子送達技術や抗体工学は、HTLV-1 感染症領域を超えて遺伝子治療や抗体医薬の領域にも多大な貢献が期待できる。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) HTLV-1 の潜伏感染に介入して発症を遅延させる方法として、人工酵素 Zinc Finger Nuclease (ZFN) 技術を基盤とした選択的プロウイルスゲノム損傷法を開発する。
- (2) 長期間にわたる医療機関への受診や薬剤の長期投与を感染者に要求せずに発症を食い止める「感染者にやさしい発症予防法」の確立が期待される。不可逆的にウイルスを無力化する技術は根治療法の基盤を提供する極めて重要な技術であり、感染者に希望を与える研究として位置づけられる。
- (3) エピジェネティックな転写制御では達成できない不可逆的な治療効果を達成できる。本法と同等の治療分子で HIV-1 感染症にて治療に成功した報告(Holt et al, Nat Biotechnol 2010)は本法の成功と早期実現に期待を持たせる。
- (4) 治療分子は HTLV-1 LTR に特異的に反応するため、非感染細胞に送達されても重大な副反応を引き起こすとは考えにくい。

Ⅲ. 2年間の研究成果

・研究代表者(駒野 淳)、研究分担者(武田 哲・田中 淳)

- (1) 治療分子ZFNがHTLV-1 LTRの機能を特異的に阻害し、LTRに物理的損傷と部位特異的に変異を導入する事を明らかにした。さらに治療分子ZFN発現によりHTLV-1で不死化したヒトT細胞とATL由来の細胞株の細胞増殖を阻害できる事を明らかにした。以上の知見はZFNがHTLV-1感染細胞除去とHTLV-1関連悪性疾患の治療分子として活性を有する事を確認づけるものである。
- (2) 治療分子ZFNが認識配列で挟まれたDNA領域を除去する活性と、ATL細胞株でプロウイルスのコピー数を現弱させる活性を持つ事を明らかにした。これらは治療分子ZFNがプロウイルスゲノムを除去する能力、つまりウイルスを体内から取り除く活性を持つ事を示している。HTLV-1のプロウイルスを除去できる活性を持つ治療分子は世界で初めてである。

・研究分担者(岡田誠治)

- (1) マウスモデルにおいてATL細胞の造腫瘍性を治療分子ZFNが抑制することを明らかにした。これは生体内におけるZFNのATLに対する治療効果を明らかにするものである。

・研究分担者(星野忠治)

- (1) 独自開発した In silico maturation 法を利用して、CD4 認識抗体の抗原親和性を向上する実験を効果的に推進するための scFv と抗原 D1 ドメインの大量生成系を構築した。In silico maturation 法のパイロット試験を行った。

・研究分担者(竹腰正隆)

- (1) 健常人由来 CD4 反応性モノクローナル抗体 HO538-213 を scFv 化し、その抗原反応性が維持されている事を確認づけた。
- (2) HO538-213 の認識するエピトープが MHC-CD4 相互作用に影響しない D1 ドメインのC末端部分に同定された。これは生体への投与における抗体の安全性を強く示唆し、将来の治療分子送達法への応用を支持する知見である。
- (3) HO538-213 scFv がマウス CD4 と反応性がある事を明らかにした。これは抗体の生体内安全性を試験するうえでマウスが利用できることを示している。

IV. 平成 25 年度の課題

- (1) ZFN の持つ HTLV-1 プロウイルス除去および HTLV-1 陽性細胞の増殖阻害活性を向上させるための技術を開発する。
- (2) HTLV-1 プロウイルスを感染細胞から全て除去する方法の基盤技術を確立する。
- (3) ゲノム完全性と遺伝子発現・細胞生理攪乱の角度から治療分子の安全性を評価する。
- (4) 小動物実験系を用いて scFv が生体内で免疫攪乱を生じるかを評価する。
- (5) scFv 化 HO538-213 の CD4 に対する親和性の向上を達成する。
- (6) 免疫グロブリン遺伝子の N 末端シグナルと TNSALP C 末端由来のアミノ酸配列を利用して GPI アンカー型 HO538-213 scFv を作出する。
- (7) レトロまたはレンチウイルスベクターの CD4 反応性 scFv 被覆を行い、CD4 陽性細胞への選択性向上を検証したうえで LENA 法への技術応用を図る。
- (8) CD4 陽性細胞に対する In vivo 治療分子送達の実用性を向上させる技術を確立する。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 本研究でプロウイルス除去や LTR 不可逆的破壊が可能であることが証明されたら HTLV-1 感染者へ次世代医療の提供を前提とした新たな厚生研究の方向性を示す事ができる。
- (2) 根治療法の実用化を念頭においた HTLV-1 病理学的基礎研究の方向性の提示に貢献できる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

・研究代表者

(1) 論文発表 : Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Mari Takizawa, Reiko Ichikawa, Jun Komano*. Therapeutic potential of HIV protease-activable CASP3. (**Scientific Reports**. 2012;2:359.) : 関連演題を日本ウイルス学会およびエイズ学会に報告

論文発表 : Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Yuko Futahashi, and Jun Komano*. Regulation of Cyclin T1 expression and function by an alternative splice variant that skips exon 7 and contains a premature termination codon. (**Gene**. 2012 Aug 15;505(1):1-8.) : 関連演題を日本分子生物学会に報告

学会発表 : ZFN に関する最新の知見は日本癌学会、ウイルス学会、分子生物学会に発表。

(2) 知的財産権

CD4反応性抗体については国際特許を申請

発明者 : 竹腰 正隆、竹腰 史子、出願人 : 学校法人東海大学

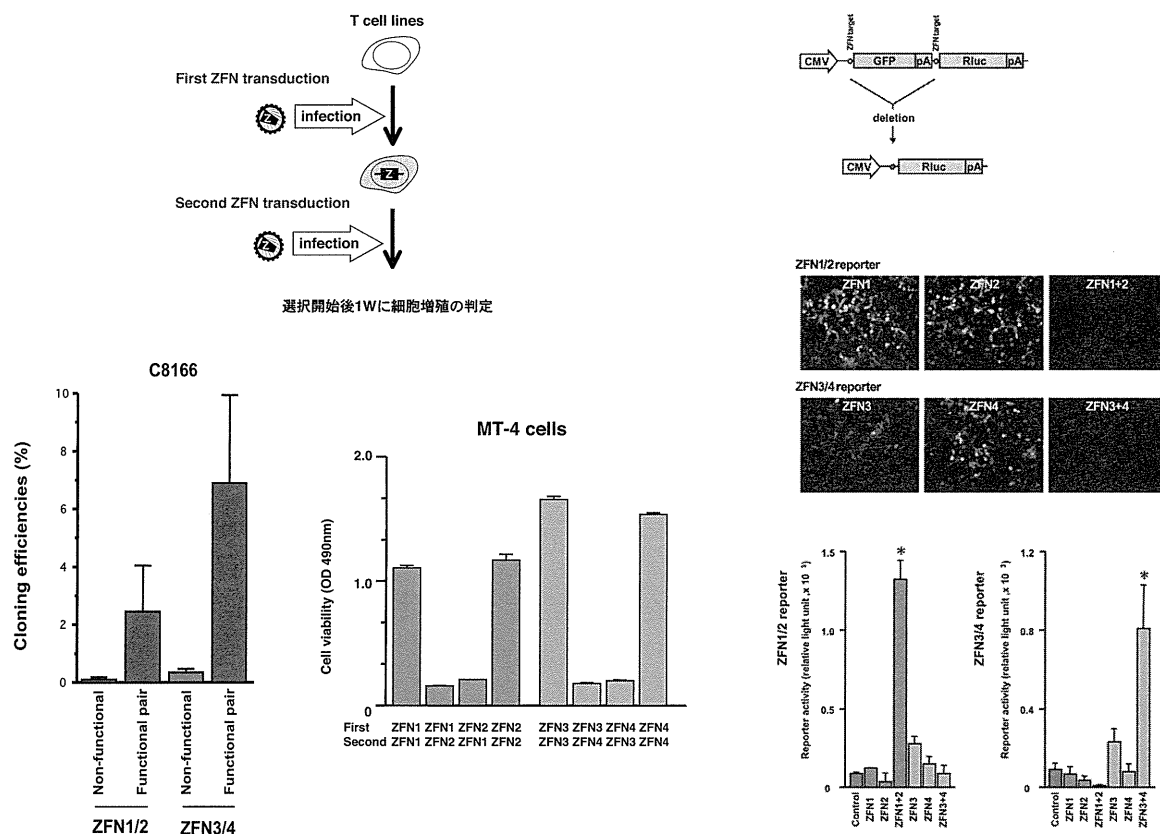
米国 US13146440 欧州 EP10735603.2 日本 特願2010-548401

(3) ガイドライン・マニュアル等については特記すべきことなし

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

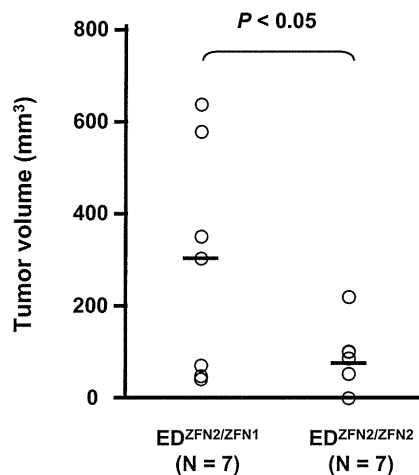
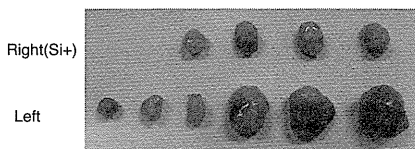
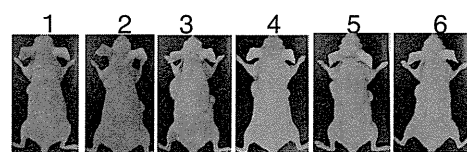
ZFNはHTLV-1感染細胞の増殖を特異的に阻害

プロウイルス除去活性を検出

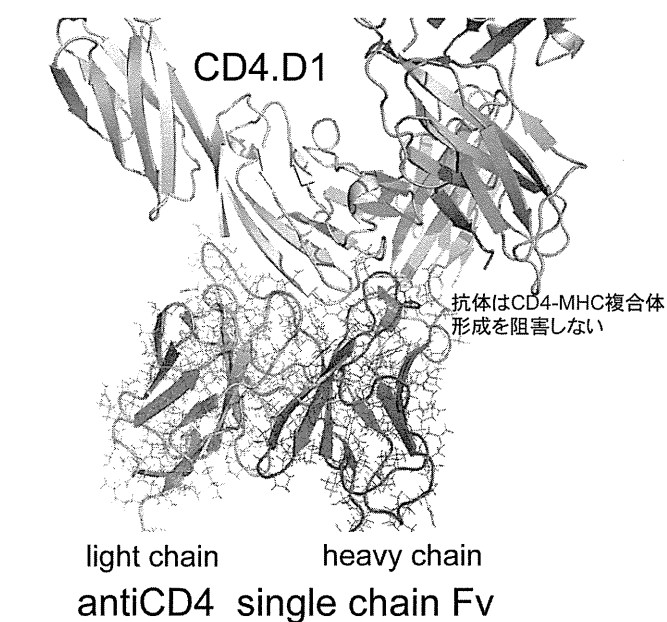


ZFNは生体内でATL増腫瘍性を阻害

治療分子デリバリー用抗体の安全性を解析



CD4.D2 MHC class 2



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1995年4月-1999年3月 北海道大学医学部大学院医学研究科 博士課程
1999年4月-2002年3月 Wisconsin 大学 Madison 校 博士研究員
2002年4月-2005年3月 国立感染症研究所エイズ研究センター 研究員
2005年4月-2012年3月 国立感染症研究所エイズ研究センター 主任研究員
2012年4月- 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部ウイルス課 主任研究員
2007年4月-現在 京都大学ウイルス研究所 客員講師 (併任)
2010年6月-現在 奥羽大学 非常勤講師 (併任)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

京都大学 ウイルス研究所 小柳 義夫 教授
千葉大学大学院薬学研究院 星野 忠次 准教授
熊本大学エイズ学研究センター 岡田 誠治 教授
National Cancer Institute, National Institute of Health Dr. Yves Pommier、Dr. Eric Freed、
東京医科歯科大学 玉村 啓和 教授
北里大学 生命科学研究所 森川 裕子 教授
東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 竹腰 正隆 講師
東京農工大学構造生化学研究室 高橋 信弘 教授
大阪大学免疫フロンティア研究所 斎藤 達哉 准教授
奥羽大学薬学部 山本 正雅 准教授
東京都立駒込病院病理部 比島 恒和 医師
国立感染症研究所 村上 努 室長、武田 哲 研究官
MBL 社 小野 健一郎 次長
抗体研究所 山田 公政社長
北海道大学 遺伝子疾患研究所 吉山 裕規 准教授
National University of Singapore Prof. Jimmy Kwang

・主な研究課題

独立した研究チームを率いて以下の研究を推進した。

(1) 細胞とウイルスの分子相互作用および感染症疫学に関する研究

HIV-1 の遺伝子産物の構造-機能相関に関する研究

レトロウイルス、エンテロウイルス、麻しんウイルス複製を制御する宿主因子に関する研究

エンテロウイルス、ノロウイルス、HIV-1、B型肝炎ウイルス、麻しんウイルスの疫学研究

(2) 細胞の悪性化とがんの生物学に関する研究

EBV関連B細胞性リンパ腫(エイズリンパ腫)に関する研究

HTVL-1関連T細胞性リンパ腫(ATL)に関する研究

癌転移を促進するCXCR4の機能制御に関する研究

- (3) ウイルス工学に基づく核酸・タンパク質の新規デリバリー法の開発
レンチウイルスベクターの改善に関する研究
安全性の高い新規細胞質内タンパク質送達法LENAの開発とその応用に関する研究
- (4) 難治疾患の治療法開発に関する研究
HIV-1感染症治療薬の開発：逆転写酵素内在性RNase H、インテグラーゼ、Gag重合阻害薬
HIV-1 Protease依存性感染細胞除去遺伝子の開発
抗体医薬の開発：中和抗体によるタミフル耐性インフルエンザウイルス感染症治療法
抗CD4抗体によるHIV-1感染症治療
細胞内標的に対する抗体医薬による癌・感染症治療法の開発
新規治療法の開発：Tリンパ腫アポトーシス誘導能を有するCASP3変異体の開発
MeVワクチン株によるATL, LBCLに対するoncolytic viral therapyの開発

・これまでの研究実績

研究業績：原著論文（欧文）ただし*は責任著者を示す。

- 1: Zhang X, et al. PLOS One. 2012 In press.
- 2*: Miyauchi K, et al. BBRC. 2012 Jul 19;12(1):109-116..
- 3*: Urano E, et al. Gene. 2012 Aug 15;505(1):1-8.
- 4: Saito T, et al. Cell Host Microbe. 2012 Jul 19;12(1):109-116.
- 5: Yanagita H, et al. Chem Pharm. Bull (Tokyo). 2012;60(6):764-771.
- 6: Hashimoto C, et al. Bioorg Med Chem. 2012 May 15;20(10):3287-3291.
- 7*: Miyauchi K, et al. Scientific Reports. 2012;2:359.
- 8: Nomura W, et al. ChemMedChem. 2012 Apr;7(4):546.
- 9*: Takizawa M, et al. AIDS. 2011 Nov 28;25(18):2209-2216.
- 10*: Watanabe T, et al. AIDS Res Hum Retroviruses. 2012 Aug;28(8):913-922.
- 11: Imadome K, et al. PLOS Pathog. 2011 Oct;7(10):e1002326.
- 12*: Urano E, et al. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Sep;55(9):4251-60.
- 13*: Aoki T, et al. Gene Therapy. 2011 Sep;18(9):936-41.
- 14*: Miyauchi K, et al. Cancer Sci. 2011 Jun;102(6):1236-41.
- 15: Yanagita H, et al. Bioorg Med Chem. 2011; 19, 816-25.
- 16*: Aoki T, et al. Gene Ther. 2010 Sep;17(9):1124-33.
- 17: Suzuki S, et al. Bioorg Med Chem. 2010 Sep 15;18(18):6771-5.
- 18: Suzuki S, et al. J Med Chem. 2010 Jul 22;53(14):5356-60.
- 19*: Urano E, et al. Vaccine. 2010 May 26;28 Suppl 2:B68-74.
- 20*: Hamatake M, et al. Eur J Immunol. 2010 May;40(5):1504-9.
- 21*: Kariya Y, et al. Cancer Sci. 2010 Apr;101(4):876-81.
- 22: Hassan R, et al. J Cell Physiol. 2009 Nov;221(2):458-68.
- 23: Murakami T, et al. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Jul;53(7):2940-8.
- 24*: Fuji H, et al. J Med Chem. 2009 Mar 12;52(5):1380-7.

- 25*: Hamatake M, et al. Cancer Sci. 2009 Jan;100(1):95-102.
- 26*: Urano E, et al. J Gen Virol. 2008 Dec;89(Pt 12):3144-9.
- 27*: Urano E, et al. FEBS Lett. 2008 Dec 10;582(29):4053-8.
- 28*: Urano E, et al. AIDS. 2008 May 31;22(9):1081-3.
- 29: Yoshida T, et al. Traffic. 2008 Apr;9(4):540-58.
- 30: Ryo A, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jan 8;105(1):294-9.
- 31: Kameoka M, et al. BBRC. 2007 Aug 3;359(3):729-34.
- 32*: Shimizu S, et al. AIDS. 2007 Mar 12;21(5):575-82.
- 33*: Futahashi Y, et al. Cancer Sci. 2007 Mar;98(3):373-9.
- 34*: Miyauchi K, et al. Antivir Chem Chemother. 2006;17(4):167-74.
- 35: Miyauchi K, et al. Jpn J Infect Dis. 2006 Apr;59(2):77-84.
- 36: Miyauchi K, et al. J Virol. 2005 Apr;79(8):4720-9.
- 37*: Komano J, et al. Mol Biol Cell. 2004 Dec;15(12):5197-207.
- 38: Kennedy G, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Nov 25;100(24):14269-74.
- 39: Komano J, et al. J Virol. 2001 Feb;75(3):1561-4.
- 40: Komano J, et al. J Virol. 1999 Dec;73(12):9827-31.
- 41: Komano J, et al. J Virol. 1998 Nov;72(11):9150-6.

特許等 4件

- 1: Tetsuo Narumi, Wataru Nomura, Chie Hashimoto, Aki Ohya, Jun Komano, Kosuke Miyauchi, and Kazuhiro Tamamura. HIV外被蛋白質gp41のC34領域ペプチドの三量体の創製と阻害剤およびワクチンとしての開発 (出願2010年11月4日)
- 2: Hideto Chono, Jun Komano, et al. Inventory of high-titer lentivirus production system by modifying the amino-terminus of Gag (出願2009年11月19日 特願2009-263587) .
- 3: Masataka Takekoshi, Jun Komano, et al. Use of anti-CD4 antibody from a healthy individual as a therapeutic drug against HIV-1 infection (出願2009年1月28日 特願2009-017340) .
- 4: Jun Komano, Gregory Kennedy, Bill Sugden. Inventory of a method to develop EBNA-1 inhibitors (US Patent No. 6,811,983). Approved in Dec 10, 2004

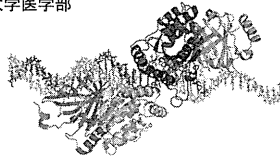
その他

著書 2件、 総説 欧文3件・邦文14件、 海外招待講演等 4件、 国内招待講演等 12件
受賞数 2件、 学会等座長 5件、 研究費審査委員 4件、
International Retrovirology Association が発行する学術誌 AIDS Res and Human Retroviruses の Review board

プロウイルスゲノム破壊による革新的 HTLV-1 関連疾患発症遅延法の開発

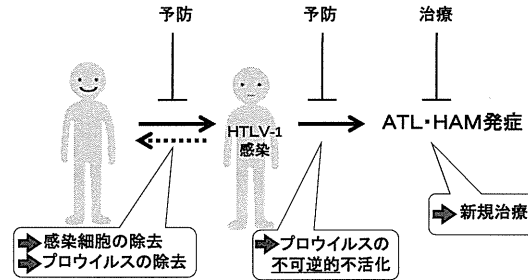
厚生労働省科学研究費補助金
 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
 (H23-新興一般-028)

研究代表者 駒野 淳 大阪府立公衆衛生研究所
 研究分担者 竹腰 正隆 東海大学医学部
 岡田 誠治 熊本大学エイズ学研究センター
 星野 忠治 千葉大薬学部
 武田 哲 国立感染症研究所
 田中 淳 大阪大学医学部

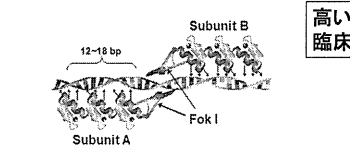


本研究のHTLV-1感染症に対するアプローチ

ウイルス除去(根治)ができる新技術を開発する概念検証研究。病態進展を防止する方法が存在しないHTLV-1感染症に具体案を提供。基礎研究における概念の立証だけでもHTLV-1感染者に大きな希望を与える。

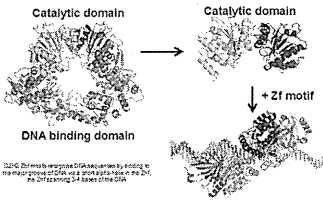


治療分子: Zinc Finger Nuclease人工酵素

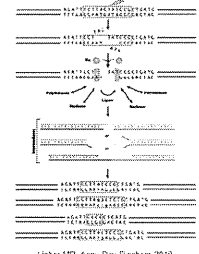


高い標的特異性を持ち、
臨床応用されている技術

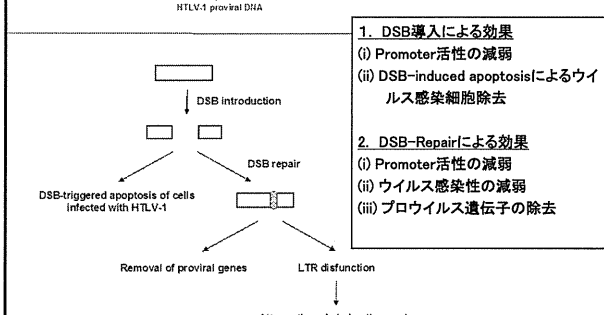
Engineering Fok I restriction enzyme to generate ZFN



Mechanism of action

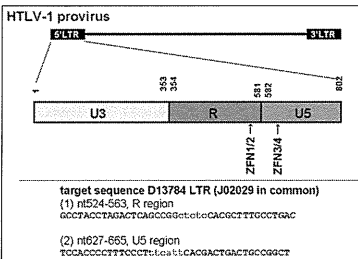
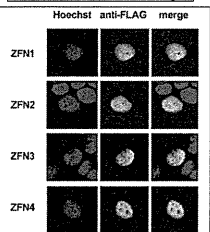
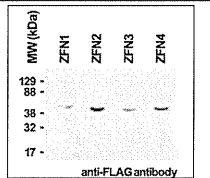
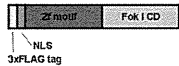


期待されるHTLV-1 LTRを標的としたZFNの活性



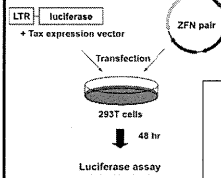
治療分子の標的と発現確認

ZFN genetic structure

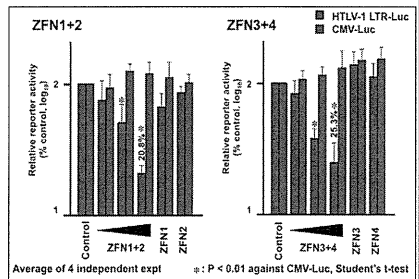


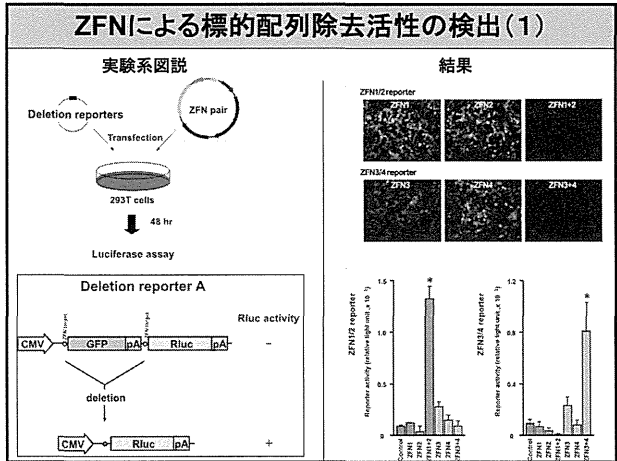
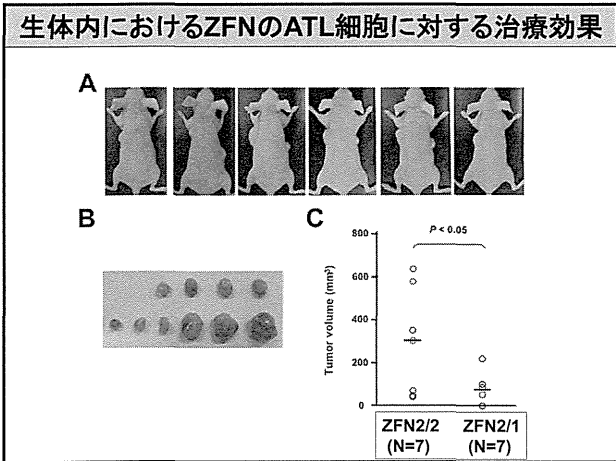
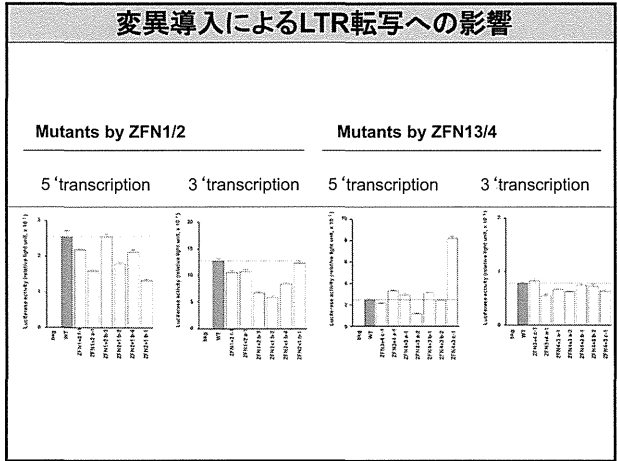
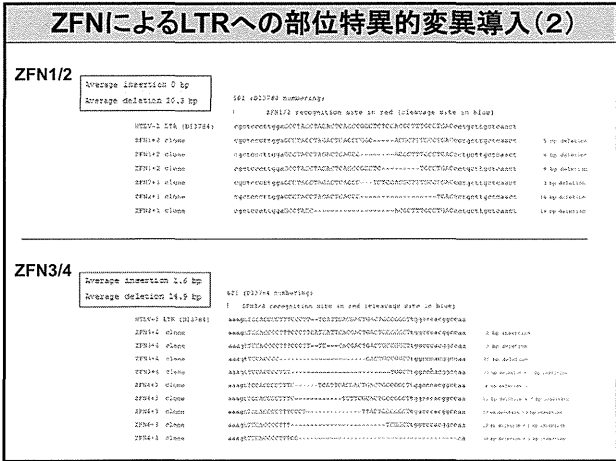
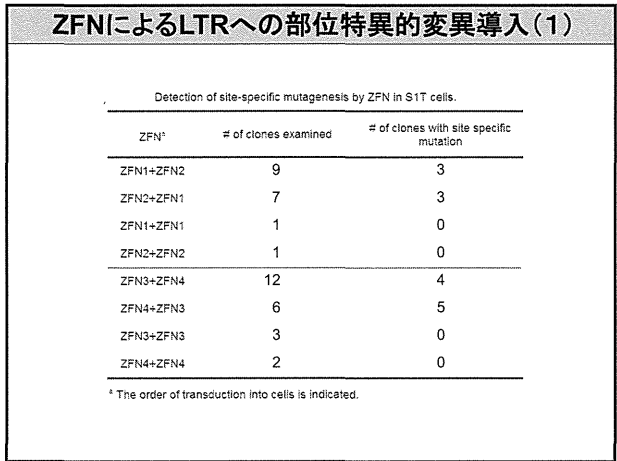
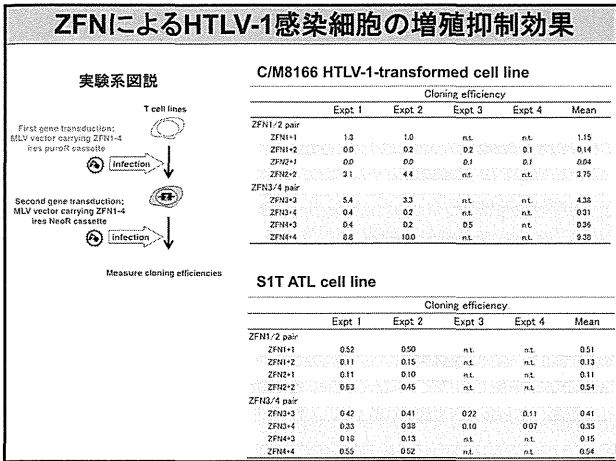
治療分子によるHTLV-1 LTR特異的な機能阻害

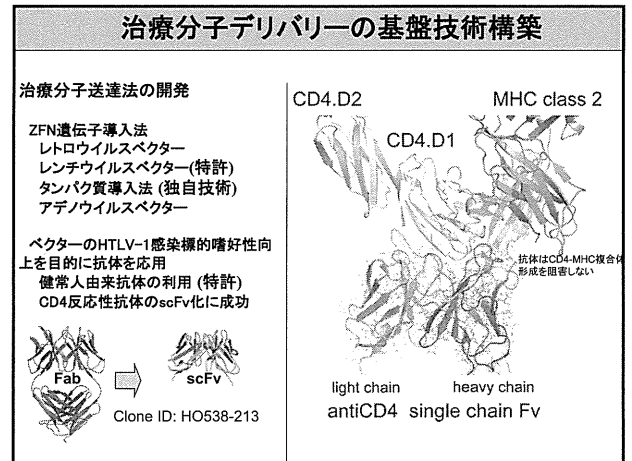
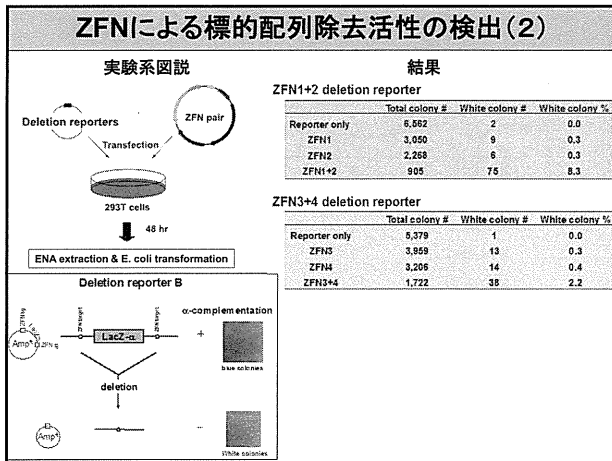
実験系図説



結果







現在までの進捗状況まとめ

新規治療技術の開発

ZFNがHTLV-1 LTRの機能を特異的に阻害し、LTRに物理的損傷と部位特異的に変異を導入する事を明らかにした。HTLV-1で不死化したヒトT細胞とATL由来の細胞の増殖阻害、生体内におけるATLに対する治療効果を明らかにした。以上の知見はZFNがHTLV-1感染細胞除去とHTLV-1関連悪性疾患の治療分子として活性を有する事を確認づけるものである。

ZFNの認識配列で挟まれたDNA領域を除去する活性と、ATL細胞株でプロウイルスのコピー数を減弱させる活性を明らかにした。これらはZFNがウイルスを体内から取り除く活性を持つ事を示している。HTLV-1のプロウイルスの除去活性を持つ治療分子は世界で初めてである。

治療分子デリバリー技術の開発

HTLV-1感染標的であるCD4陽性T細胞への特異的かつ安全な治療分子導入を目指し、健康人由来CD4反応性モノクローナル抗体HO538-213を基盤とした技術を構築中。scFv化抗体が認識するエピソードがMHC-CD4相互作用に影響しないVD1ドメインのC末端部分に同定された。これは生体への投与における抗体の安全性を強く示唆し、治療分子送達法への応用を支持する知見である。

将来展望と課題

- (1) 治療より発症防止の方が感染者の身体的負担は小さいうえ、社会経済的観点からもメリットがある。本研究でプロウイルス除去やLTR不可逆的破壊が可能であることが証明されたら、HTLV-1感染症根治の現実を念頭に新たな厚生研究の方向性を示す事ができる。
- (2) 本技術とiPS技術、末梢血幹細胞移植、遺伝子治療を組み合わせることにより、治療抵抗性として知られるATLに対し、新たな治療法を提供することもできる。
- (3) 治療分子送達技術や抗体工学は、HTLV-1感染症領域を超えて遺伝子治療や抗体医薬の領域にも多大な貢献が期待できる。
- (4) HTLV-1プロウイルスを感染細胞から全て除去する方法の基盤技術を確立する。ゲノム完全性と遺伝子発現・細胞生理攪乱の角度から治療分子の安全性を評価する。

平成24年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題： HTLV-1 感染症予防ワクチンの開発に関する研究
課題番号： H23-新興-一般-029
予定期間： H23年度からH25年度まで
研究代表者： 長谷川 秀樹
所属研究機関： 国立感染症研究所
所属部局： 感染病理部
職名： 部長
年次別研究費(交付決定額)：1年目 31,190,000 円 2年目 31,190,000 円

I. 研究の意義

- (1) 国内に100万人を超える感染者がおり過去20年間でその数は僅かに減ったのみであり感染者を減らす為に感染予防ワクチンの開発を目的とする。
- (2) HTLV-1 感染症は、低頻度ながらも ATL 等重篤な疾患を引き起こす感染症である。本研究は、この HTLV-1 感染症の克服に向け、HTLV-1 感染の予防、感染者の発症予防あるいは ATL 発症者の治療に結びつくワクチンの開発を目指すものである。
- (3) HTLV-1 の感染によって引き起こされる成人 T 細胞性白血病の発症機構を解明しその機構に基づいた発症予防ワクチン構築を目指す。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 先進国で由一の HTLV-1 流行国である日本から HTLV-1 感染者を無くす目的で HTLV-1 感染予防ワクチンの開発を行う。
- (2) HTLV-1 感染増殖あるいは ATL 細胞増殖の抑制効果を有する細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応の標的抗原を同定し、その抗原特異的 CTL 反応誘導法を開発することを目的とする。感染予防、発症予防あるいは治療効果を有する CTL 誘導ワクチン開発に結びつくことが期待される。
- (3) 老化に伴い発症する ATL の発症メカニズムを解明し発症予防ワクチンの開発を目指す。

III. 2年間の研究成果

・研究代表者 (長谷川秀樹)

- (1) HTLV-1 ワクチンの開発の為に、ターゲット分子となりうるエンベロープ蛋白をコードする遺伝子をコドン最適化し哺乳動物細胞を用いた発現系を作成した。
- (2) HTLV-1 tax 遺伝子導入マウスにおけるマウス ATL 発症とその SCID マウスへの移植系を確立し野生マウスへの移植は拒絶される事を確認。
- (3) モデル抗原を用いて経鼻でワクチン接種した際に母乳中に抗原特異的 IgA 抗体と IgG 抗体を誘導することを確認、経母乳感染する HTLV-1 の感染防御ワクチンのワクチンルートとして粘膜投与の可能性が示唆された。
- (4) 研究分担者梁明秀が作成したコムギ無細胞タンパク質合成系により合成された env 蛋白をマ