ヒトT細胞白血病ウイルス1型（HTLV-1）による白血病発症機構

樋口雅也
新潟大学医学部ウイルス学分野

Mechanism of Leukemogenesis by Human T-cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1)

Masaya HIGUCHI

Division of Virology, Niigata University School of Medicine

要　旨

ヒトT細胞白血病ウイルス1型（HTLV-1）は成人T細胞白血病（ATL）の原因ウイルスである．ATLは，HTLV-1感染者のうち約5%が，平均60年の潜伏感染の後に発症する極めて悪性の白血病である．HTLV-1と近縁のヒトレトロウイルスとしてHTLV-2が知られている．HTLV-2はHTLV-1と同様に，感染T細胞の増殖を促進し不死化させる．しかしながら，HTLV-1と異なりHTLV-2感染は白血病を起こすことはない．我々はこれらのウイルスのもつトランスフォーミング蛋白，HTLV-1 Tax1とHTLV-2 Tax2の機能の違いが，病原性の有無を規定しているとの仮説をたてた．Tax1はマウスT細胞株CTLL-2をIL-2依存性から非依存性へとトランスフォームするが，Tax2においてはその活性が顕著に低下する．この違いはTax1の2つの特異的な機能，PDZドメイン蛋白の不活化とNF-κB2の活性化に起因することがわかった．またTax2はNFATを活性化する特異的な作用をもち，NFATを介したIL-2の分泌により感染T細胞を増殖させていることが明らかとなった．これらの増殖様式の違いは，HTLV-1感染細胞に遺伝子変異を蓄積させるように働き，その結果としてATLの発症が促される可能性が示唆された．

キーワード：成人T細胞白血病，ATL，HTLV-1，HTLV-2

はじめに

ヒトT細胞白血病ウイルス1型（HTLV-1）は，成人T細胞白血病（ATL）の原因ウイルスとして，1980年代初頭に同定されたヒトレトロウイルスの一種である[1]．このウイルスは日本，特に九州沖縄地方に感染者が多いのが特徴であり，現在日本だけで約120万人のHTLV-1感染者がいると推定されている．ちなみに全世界における感染者は約2000万人と推定されており，いかに日本においてこのウイルスが根付いているかを窺わせる．またHTLV-1はATLだけでなく，HTLV-1随伴脊髄症（HAM）の原因ウイルスでもあり，患者は痙性脊髄麻痺など重篤な神経症状を示す．

ATLに対しては，現在のところ有効な治療法は確立されておらず，多くの患者は発症後数年以内に死に至る．統計上，感染者のうち約5%がATLを発症することから，単純に計算すると，日本で

Reprint requests to: Masaya HIGUCHI
Division of Virology Niigata University
School of Medicine
1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510　新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学医学部ウイルス学分野　　樋口雅也

は今後少なくとも5万人以上の方がATLを発症すると考えられ，その治療法の確立は喫緊の課題である．しかしながら，ATLの病態なかでも白血病発症機構は未だ不明な部分が多く，その全貌を明らかにすることは治療法の確立のために必須である．本稿では，我々が今まで取り組んできたHTLV-1研究で得られた成果を交えて，HTLV-1による白血病発症機構について概説したい．

HTLV-1の感染からATL発症まで

HTLV-1の感染は，主としてキャリアーの母親から子供に母乳を介して起こるが，この際HTLV-1感染T細胞は非感染細胞と，いわゆるウイルス学的シナプスを形成し，ウイルス粒子を細胞間で移動させることによって感染を成立させていると考えられている．感染したウイルスのゲノムRNAは，逆転写酵素によりRNAからDNAへと変換され，宿主細胞の染色体へと組み込まれる．HTLV-1の特徴は，自らのコピー数を増やすため，感染細胞中でウイルス粒子を大量に産生するのではなく，宿主細胞の増殖や生存を促すことにより，細胞ごとコピー数を増やそうとするところにある．実際に *in vitro* で末梢血T細胞にHTLV-1を感染させると，感染T細胞はインターロイキン2（IL-2）存在下で不死化し，無限に増えるようになる．しかしながら，生体の強力な免疫システムにより，増殖した感染細胞は速やかに排除されていく．その結果，一部の不死化した感染細胞が，細々と潜伏感染を続けていくことになる．そして，長い潜伏感染の間にHTLV-1感染細胞には遺伝子変異等が蓄積され，さらに宿主の免疫力の低下などの要因が重なり，ATLが発症すると考えられている．このことはATL発症までには平均して60年の期間が必要であること，一部の感染者のみATLを発症することなどからからも裏付けられる．

しかし，同じように終生T細胞に潜伏感染しながら，白血病を起こすことのないウイルスが存在する．HTLV-2である．

HTLV-1とHTLV-2

HTLV-2はHTLV-1と非常によく似た近縁のヒトレトロウイルスである．HTLV-2の際立った特徴は，HTLV-1でみられる白血病や神経疾患との因果関係がみられないということである．しかし，*in vitro* でHTLV-2を感染させた末梢血T細胞は，HTLV-1感染T細胞と同程度に不死化し，無限に増殖するようになる．このことからわかるのは，HTLV-1のもつT細胞不死化活性だけでは，その病原性を説明することはできないということである．あるいは，HTLV-1とHTLV-2のT細胞不死化活性自体に何らかの質的な違いがあり，その違いが病原性の違いを規定している可能性もある．それでは，いったい何がHTLV-1とHTLV-2の病原性の違いを規定しているのであろうか？それが突きとめられれば，HTLV-1の白血病発症機構の理解につながることは間違いない．そこで我々は，病原性の違いを規定する因子として，HTLVがもつトランスフォーミング蛋白Taxに着目した．

Tax1とTax2

HTLV-1とHTLV-2のゲノム構造を示す（**図1**）．両者とも *gag, pol, env* の構造遺伝子以外に，*tax* などいくつかの非構造遺伝子を含んでいる．このうち，Tax1, Tax2はトランスフォーミング蛋白として知られており，感染T細胞の不死化に必須の蛋白である．たとえば，Tax1を欠失したHTLV-1は末梢血T細胞を不死化できないし，また逆にTax1単独で末梢血T細胞を不死化することができる．Tax1は極めて多彩な機能を有する蛋白であり，転写因子NF-κB, CREB, AP1などを活性化し，様々な遺伝子の発現変化を促す．さらにp53といったがん抑制因子を阻害する機能も有しており，これらの機能の総合的な作用により，感染細胞の不死化さらにはがん化が引き起こされると考えられている．しかしながら，Tax2はTax1とアミノ酸レベルで70％の相同性をもち，上記のTax1の作用はHTLV-2 Tax2でも同様にみられ

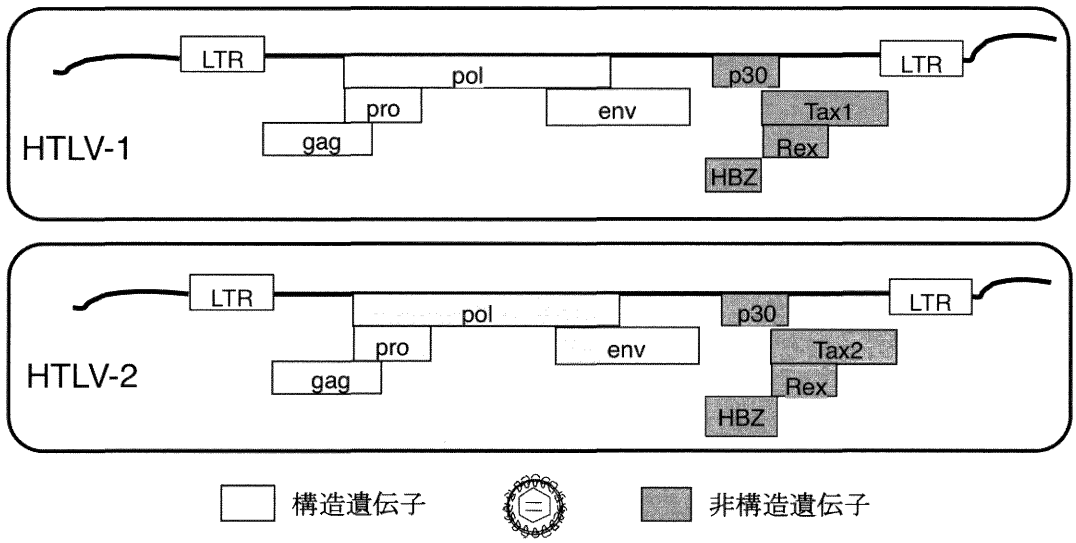


図1　HTLV-1とHTLV-2の構造

る．つまり，Taxが病原性の違いを規定しているならば，Tax1とTax2には何らかの機能の違いが存在していなくてはならない．

Tax1とTax2のトランスフォーメーション活性

Tax1とTax2の機能の違いを調べるため，我々は独自のTaxトランスフォーメーションアッセイ系を確立した．マウスT細胞株CTLL-2はIL-2依存性に増殖するが，この細胞にTax1をレンチウイルスを用いて導入すると，IL-2非依存性に増殖するようになる．この系を使ってTax1とTax2を比較すると，Tax1に比べTax2のトランスフォーメーション活性は顕著に低いことが明らかとなった[2]．言い換えれば，Tax1は直接CTLL-2の細胞周期を回転させ，かつアポトーシスを阻害することで細胞増殖を促進する活性をもつが，Tax2にはそのような活性が殆どないということである．したがって，このTax1特異的なトランスフォーメーション活性が，ATL発症において重要な役割を担っているであろうことは疑いない．それでは，このTaxにおける機能の違いは，いかなる分子メカニズムで生じているのであろうか．

Tax1特異的な機能1：PDZドメイン蛋白との結合

Tax1とTax2はアミノ酸レベルで75％の相同性をもつ極めてよく似た蛋白であるが，そのC末端の配列は全く違ったものとなっている．Tax1はC末端にETEVというPDZドメイン結合配列（PDZ domain Binding Motif: PBM）を持つのに対して，Tax2はPBMを持たない．そこで，Tax1のPBMを欠失させた変異体（Tax1ΔC）のトランスフォーメーション活性を調べたところ，その活性はTax2レベルまで低下することが明らかとなった[2]．つまりこの結果は，PBMを介したPDZドメイン蛋白質との結合が，Tax1のトランスフォーミング活性に重要であることを示している．

さらに，Tax1PBMと結合する細胞内蛋白質をGST-Tax1を使ったプルダウンと質量分析により網羅的に同定したところ，従来から報告のあったDlg1以外にUtrophin, Scribble, MAGI1, Erbin,

MPP6, MPP7, Dystrobrevin, Syntrophin β1といった多くのPDZドメイン蛋白とその結合蛋白がTax1と複合体を形成することがわかった（未発表データ）．なかでもDlg1, Scribbleはショウジョウバエにおけるがん抑制因子であり，哺乳類細胞においても細胞増殖を抑制する働きをもつことが知られている．また子宮頸癌の原因ウイルスであるHuman Papilloma Virus（HPV）のトランスフォーミング蛋白E6もC末端にTax1と良く似たPBMをもち，Dlg1, Scribbleといった PDZ蛋白と結合することにより，その分解を促す．興味深いことにPBMは発がん性をもつハイリスク型HPV E6に特異的に存在する．すなわちPDZ蛋白の不活化はATLだけでなく，子宮頚癌などのウイルス性の癌，さらにはより一般的な癌の発症に関わっている可能性が高い．しかしながら，Tax1とPDZドメイン蛋白との結合が，いかなる分子メカニズムでT細胞のトランスフォーメーション，さらにはATL発症に関わっているのかは，今のところ不明である．この点は今後の研究の課題の一つといえる．

Tax1特異的な機能2：NF-κB2の活性化

NF-κBの活性化には2つの経路があることが知られている．NF-κB1活性化（古典的経路）とNF-κB2活性化（非古典的経路）である．主として，NF-κB1活性化ではIκBの分解を介したp50-RelA複合体の核内移行が，またNF-κB2活性化ではp100のp52への切断を介したp52-RelBの核内移行が促される．どちらも，生体内における免疫システムにおいて重要な役割をもっているが，特にNF-κB2の異常な活性化は，白血病の発症などにも関わっていると考えられている．従来からTax1はNF-κB1，NF-κB2の両経路を活性化することが知られていた．我々はTax2に関してその活性を検討したところ，驚くべきことにNF-κB1はTax1と同程度に活性化されるものの，p100のp52への切断すなわちNF-κB2の活性化は全くみられないことが明らかとなった[3]．それでは，この違いはTax1とTax2のトランスフォーメーション活性の違いに寄与しているのであろうか？そこで，CTLL-2においてRNA干渉法によりNF-κB2のノックダウンを行ったところ，Tax1のトランスフォーミング活性が顕著に低下することがわかった．また逆に，NF-κB2経路の強力な活性化因子であるNIKを発現させたCTLL-2では，Tax2のトランスフォーミング活性が顕著に増加し，さらにPBMを付加したTax2の活性は，Tax1と同程度まで上昇することがわかった[3]．つまりNF-κB2の活性化の有無は，Tax1とTax2のトランスフォーミング活性の違いの規定因子のひとつであることが明らかとなった．我々はさらなる解析を進めた結果，Tax1のアミノ酸225～243番目の領域（ロイシンジッパー様領域: LZR）が，NF-κB2活性化に関わることを明らかにした[4]．この領域をTax2型に変換するとNF-κB2活性化は認められず，CTLL-2のトランスフォーメーション活性も顕著に低下するのである．

NF-κB2経路の活性化により，様々なサイトカインやケモカインの発現上昇がみられるが，これらの分泌因子がT細胞のトランスフォーメーションを促進している可能性は十分にあり得る．さらにNF-κB2の活性化は強力なアポトーシス促進因子Bimの発現を抑制することが知られており，実際にHTLV-1感染細胞株，ATL細胞株においてBimの発現量は正常細胞に比べ顕著に低いか，完全に消失している（未発表データ）．このことから，NF-κB2を介したBimの発現低下が，HTLV-1感染細胞のがん化に寄与している可能性は非常に高いといえる．

以上の結果から，Tax1とTax2には，PDZドメイン蛋白質との結合とNF-κB2の活性化という2つの重要な機能の違いがあり，この違いが最終的に病原性の有無を規定している可能性が示唆された．

Tax2特異的な機能：NFATの活性化

ここまでは，HTLV-1の病原性を考えるうえでTax1特異的な機能に焦点をしぼって解説してき

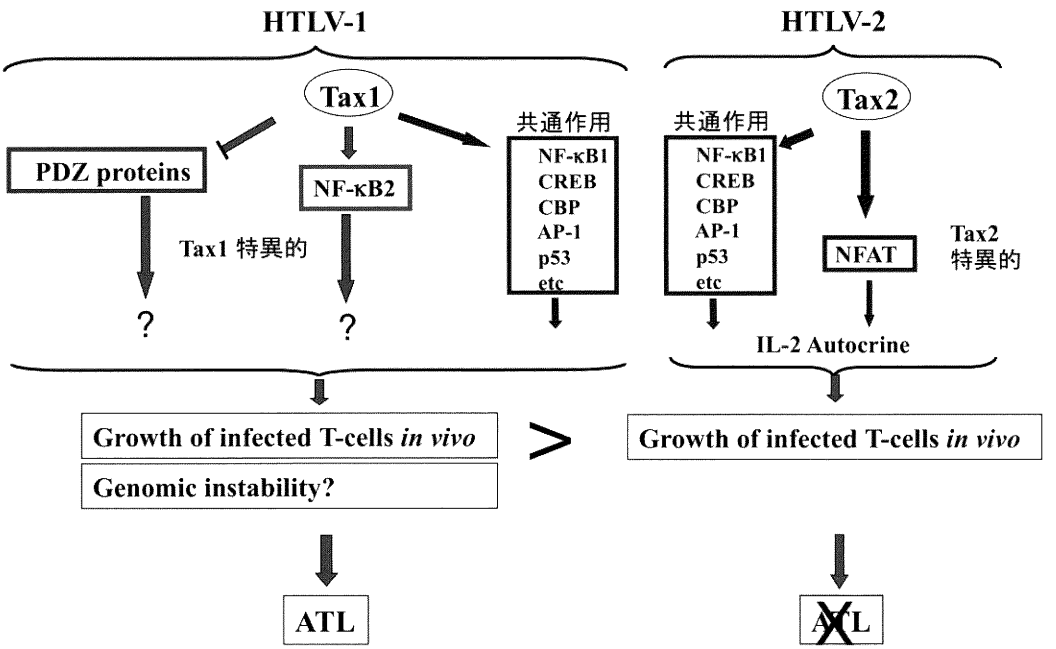


図2　HTLV-1とHTLV-2の細胞増殖促進様式の違い

た．しかしながら，逆にHTLV-2 Tax2にはTax1にはない特異的な機能はあるだろうか？Tax2特異的な機能が，HTLV-2の低病原性に関与している可能性はないだろうか？という疑問も湧く．そこで，我々はTax2特異的な機能を探索した結果，Tax2はTax1とは異なり，転写因子NFATを強力に活性化することを見出した[5]．NFATは，抗原によるT細胞受容体刺激により活性化される転写因子であり，最終的にIL-2の分泌を増大させ活性化T細胞の増殖を促進する．HTLV-2感染細胞ではNFATが恒常的に活性化しており，さらにIL-2分泌が亢進しているのである．この現象は，HTLV-1感染細胞では全く認められず，HTLV-2特異的であることもわかった．さらに，Tax2単独でこのような作用を示すことがわかり，Tax2はNFATの活性化を通してIL-2分泌を促進し，感染細胞を増殖させている可能性が浮上した．実際に，NFATの活性化を阻害する薬剤サイクロスポリンAや，IL-2受容体に対する抗体などでHTLV-2感染細胞を処理すると，その増殖は顕著に抑制されることから，感染細胞増殖におけるTax2によるNFAT活性化の重要性が示されている．

したがって，HTLV-2はTax2によるNFATの活性化とIL-2の分泌という，HTLV-1とは全く異なったメカニズムでT細胞を増殖，不死化させていることが明らかとなった．このことは一見すると，HTLV-2の低病原性とは矛盾するような印象を受ける．HTLV-2感染細胞はIL-2を自己分泌することにより増殖する．ということは，IL-2がない環境下でも増殖可能であるのだから，むしろ白血病発症との関連が強いのではないか？という考えである．この点に関しては最後のまとめで議論したい．

まとめ

ここまでHTLV-1 Tax1とHTLV-2 Tax2のさ

まざまな機能の違いについて概説してきた．これらの機能の違いが，どのような分子メカニズムで病原性の有無を規定しているのか？この問いに対する明確な答えはまだ得られてはいないが，我々が現在のところ考えているモデルを提出する（**図2**）．Tax1とTax2にはNF-κB1, CREB, AP1活性化といった共通の機能と（共通作用），Tax1, Tax2に特異的な機能が存在する（特異的作用）．Tax2は共通作用プラスNFAT活性化を通じて，IL-2というT細胞増殖因子を分泌させ，感染細胞の増殖を促進する．しかしながら，その増殖様式はIL-2の分泌といういわば間接的なものであり，あくまで生体内で起こる増殖様式に沿ったものである．つまり，その増殖は徹頭徹尾，IL-2に依存するのである．一方でTax1は，共通作用プラスPDZ蛋白の不活化やNF-κB2の活性化などにより，感染細胞の細胞周期を直接回転させ細胞増殖を促進する．このような細胞周期の撹乱は，細胞側にとってはがん化ストレスと認識され，細胞側はセネッセンスやアポトーシスなどの対抗措置を講ずる．しかしTax1はその特異的な活性により，この対抗措置をも乗り越える．いずれにせよ，このように細胞周期を直接強引に進行させる様式は，IL-2などの外部要因に依存しない，ブレーキの効かない増殖を誘導するであろう．この結果，長い潜伏感染の間に，HTLV-1感染細胞にはゲノム不安定性などにより多数の遺伝子異常が生じ，細胞がん化への道筋ができてしまうのではないだろうか．

Tax1とTax2の機能の違いを明らかにするという，研究当初は半信半疑だったこのテーマではあるが，意外にも多くの違いがTax1とTax2に存在することがわかり，この線でいけばもしかしたら，ATL発症メカニズムの一端を明らかにできるかもしれない，との思いを強くしている．今後はこれらの基礎研究で得られた知見を，どのような形で治療薬開発など臨床へつなげていくのかが，我々に課された重要な課題になっていくと考えられる．

文　献

1）Takatsuki K: Discovery of adult T-cell leukemia. Retrovirology 2: 16, 2005.

2）Tsubata C, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Gejyo F and Fujii M: PDZ domain-binding motif of human T-cell leukemia virus type 1 Tax oncoprotein is essential for the interleukin-2 independent growth induction of a T-cell line. Retrovirology 2: 46, 2005.

3）Higuchi M, Tsubata C, Kondo R, Yoshida S, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Mahieux R, Matsuoka M and Fujii M: Cooperation of NF-κB2/p100 activation and the PDZ domain binding motif signal in human T-cell leukemia virus type 1（HTLV-1）Tax1 but not HTLV-2 Tax2 is crucial for interleukin-2-dependent growth transformation of a T-cell line. J Virol 81: 11900-11907, 2007.

4）Shoji T, Higuchi M, Kondo R, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Aoyagi Y and Fujii 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 6: 83, 2009.

5）Niinuma A, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Gejyo F, Tanaka N, Sugamura K, Xie L, Green P and Fujii M: Aberrant activation of the interleukin-2 autocrine loop through the nuclear factor of activated T cells by nonleukemogenic human T-cell leukemia virus type 2 but not by leukemogenic type1 virus. J Virol 79: 11925-11934, 2005.