

# 論文審査の結果の要旨

氏名 フィルジ サナーズ

ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-1) の感染者 (キャリア) は、日本をはじめ、カリブ海沿岸諸国、南米、アフリカ中央部などに多く存在し、我が国では約 110 万人(人口の 1%)以上、世界全体では数千万人に及ぶと推定されている。キャリアからの成人 T 細胞白血病 (ATL) 生涯発生率は約 5%であるため、日本でも今後約 5 万人が ATL を発症すると考えられる。ATL は、HTLV-1 感染 T リンパ球が腫瘍化することによって発症する予後不良の白血病・リンパ腫である。ウイルスは母乳を介して T リンパ球に感染し、60 歳台になってから発症する。感染細胞の腫瘍化機構は多段階発がん機構による事が示されているが、その分子機構は不明である。HTLV-1 はレトロウイルスであるため、感染細胞 1 個あたり 1 コピーのプロウイルスがその染色体に組み込まれており、その部位は感染細胞ごとに異なる。成人のキャリアでは、感染細胞がクローンとして増殖した結果を見ているので、組み込み部位がマーカーとなる。これらのクローンの中から腫瘍化細胞が出現しモノクローナルに増殖した状態が ATL である。つまり、ATL の発症過程は HTLV1 の感染に始まり 60 年の長い潜伏期を経過して、不死化した多数のクローンの中から、遺伝子変異などを通じて増殖のアドバンテージを獲得した細胞がクローンを拡大し、臨床的にはくすぶり型や慢性型を経て重篤な急性型 ATL へと進展すると考えられている。従来、ATL の確定診断にはサザンブロット法による感染細胞のモノクローナルな増殖の証明が用いられてきた。また、生体内の感染細胞の多クローン性増殖の解析には、高感度な PCR ベースの分析法(Inverse PCR や Linker mediated PCR)が開発されてきた。一方、定量的 PCR を用いた末梢血中の感染細胞数の測定結果は、ATL 発症のリスク評価にも応用されてきた。

従って、現在の残されている課題は、生体内の感染細胞のクローン性増殖の程度と性質に関する情報をもとに、キャリアの中の発症高危険群を明らかにすること、治療選択の基盤となる ATL の病型分類を分子レベルの情報に基づいて再検討することである。感染細胞の量的な評価法については、定量 PCR の標準化が進んでいる。一方、クローン性増殖の実態を明らかにする方法は、次世代シーケンサー

(NGS) を利用した組み込み部位の解析法が英国のグループから報告されている。本論文の筆者は、この方法の感度および定量性の限界と問題点を解決し、高感度かつ定量性の高い方法を開発し、様々な病態における生体内の HTLV-1 感染 T 細胞クローンの状態を明らかにすることを目指した

新たな方法で改善を目指す課題は、①高 PVL における多数の組み込み部位の数が検出可能であること、②感染細胞数の少ないサンプルも定量的に解析可能となる感度、③各クローンのクローンサイズの優れた定量性、である。英国のグループの方法は定量性に課題が残されていた。彼らの方法は、サンプルの DNA をランダムに断片化し、そのサイズの違いを基準に細胞数を定量する方法であった。それに対して本論文の著者は、DNA の長さによるバリエーションは、実際には 250 未満しかないことを示し、それを改善するために Tag システムを導入して、従来法より遥かに多数の 65,536 バリエーションを提供する独自の系を開発した。種々のコントロール検体を用いて、この解析系の再現性、定量性、感度を検証し、この系が上の 3 つの条件全てを解決可能であること示した。さらに、解析によって生み出される莫大な

データを正確に解析するための in-silico 解析プログラムも独自に開発した(Firouzi, et al. *Genome Medicine* 2014)。

さらに、この解析系を用いて臨床サンプルについてパイロット的な解析を進めた。対象として、コホート研究で経時的に蓄積されたキャリアおよび ATL 患者の検体を用いて、クローンの経時的变化と、ATL の各病型ごとのクローナリティの特徴を検討した。論文作成時までのデータでは、以下のような可能性が示された。①くすぶり型から慢性型、慢性型から急性型などの、プログレッションを示した症例では、元から幾つかのクローンが大きくなっているオリゴクローン性増殖が見られる。②経過観察中あるいは治療後にメジャークローンが交代する例が認められる。これらの結果は、ATL 臨床病型の見直し、プログレッションの予知、治療抵抗性の獲得機構の理解に直結する新たな可能性を示す知見であり、ATL の診断、発症予知、治療法選択などに直結する非常に重要な問題点への取り組みの重要性を示すものであるとともに、それらの問題に対する解決をもたらす可能性を強く示唆するものである。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

(文字数 1991文字)