

# 1. HTLV-1 と ATL

渡邊 俊樹

## はじめに

HTLV-1がヒトのレトロウイルスとして初めて同定され、成人T細胞性白血病(ATL)の原因ウイルスであることが明らかにされてから既に20年以上が過ぎた<sup>1,2)</sup>。ATLは「HTLV-1感染細胞が腫瘍性増殖を示したもの」と定義出来る<sup>3)</sup>。HTLV-1はATL以外にも種々の疾患との関連が議論されているが、現時点では、HTLV-1関連脊髄症(HAM/TSP)およびHTLV-1ぶどう膜炎(HU)が、明らかな因果関係と明確な疾患概念が確立されていると言える。従って、HTLV-1が原因となって発症する疾患はATL, HAM/TSPおよびHUの3つであると考えて良い<sup>3)</sup>。HTLV-1の病原性発現機構、特にATLの発症機構は精力的に研究が進められてきた。ATL細胞におけるHTLV-1プロウイルスの組み込み部位がモノクローナルなパターンを示す事<sup>4)</sup>は、この腫瘍がHTLV-1感染細胞のクローナルな増殖による事を示す直接的な証拠と考えられた。しかし、ATL細胞のプロウイルス組み込み部位が症例ごとに異なる事が示されて<sup>5)</sup>、腫瘍化機構としてプロウイルスがcisの作用を示す「Promoter Insertion Model」は否定された。従って、HTLV-1のコードするウイルスタンパク質、特に転写制御因子であるTaxによるTransの作用が注目された。Taxについての分子生物学は飛躍的に展開し、これまでその多様な生物学的機能が次々と明らかにされた<sup>6,7)</sup>。後に腫瘍化機構との関連でその一部を紹介するが、結論から言うと、このような進歩にもかかわらず、HTLV-1による感染Tリンパ球の腫瘍化機構そのものに

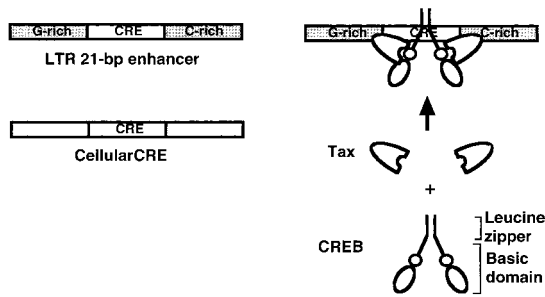
ついては未だに明らかになっていないと言わざるを得ない<sup>3)</sup>。ATL発症までには、約50年以上の長い臨床的潜伏期間が存在する。また、ATL細胞が感染細胞のポリクローナルな増殖では無く、モノクローナルな増殖である事自体が、Taxの作用によって感染細胞が腫瘍化するという単純な理解を否定する事実である。実際、発症年齢分布の疫学的解析に基づく検討では、ATL発症には、少なくとも5つのleukemogenic eventsの蓄積が必要であるとされており、ヒトのがんの中で多段階発がんのモデルにもっともよく合致する事が示された<sup>8)</sup>。このような多段階発がん機構の枠組みで捉えると、HTLV-1感染とそれに続く感染Tリンパ球の増殖と不死化は、そのうちの初期の幾つかの過程に対応すると考える事ができる。従って、ATL発症機構を理解するには、これ以降の過程に関与する分子機構を明らかにする事が不可欠である。本稿では、まず腫瘍化に深く関与していると考えられるTaxの機能を中心に紹介し、多段階発がんの枠組みにおけるそれらの位置付けを検討してみる。その後で、実際に多段階のプロセスを経て腫瘍化したATL細胞について、現在明かになっている分子細胞生物学的情報と比較検討してみたい。ATL細胞の種々の分子細胞生物学的な表現型は、上記の5つ以上のleukemogenic eventsの集積の結果を反映していると考えられる事から、その解析は、腫瘍化機構の理解、更には発症予防や治療を考える上で重要であると考えられる。

## (I) HTLV-1 転写制御因子 Tax の機能

HTLV-1 Taxは40kDaの、主に核内に局在するリン酸化タンパク質である。当初、TaxはプロウイルスのプロモーターであるLTRのU3領域内に存在する21塩基のエンハンサー配列を介してウイルス遺伝子の転写を活性化する因子として同定された<sup>9-13)</sup>。その後、Taxの様々な機能が明らかにされてきたが、その内の一部がATLの発症に関与しているものと考えられている。ウイルス遺伝子の転写活性化に加えて、Taxは細胞の遺伝子発現の制御を攪乱する事が示された。従ってTaxはウイルスのライフサイクルの中で二つの重要な機能を持つと考え事ができる。まず、ウイルス遺伝子発現の強力な活性化であり、二つ目は細胞の活性化や細胞分裂に重要な制御機構に影響を

東京大学医科学研究所 癌・細胞増殖研究大部門  
人癌病因遺伝子分野  
(〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1)  
HTLV-1 and ATL leukemogenesis  
Toshiki Watanabe  
Department of Cancer Research, Division of Pathology,  
Institute of Medical Science, University of Tokyo  
4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan  
TEL: 03-5449-5298  
FAX: 03-5449-5418  
E-mail: tnabe@ims.u-tokyo.ac.jp

(A) TaxによるウイルスLTR 21bpエンハンサーの活性化



(B) Taxによる細胞性遺伝子発現制御

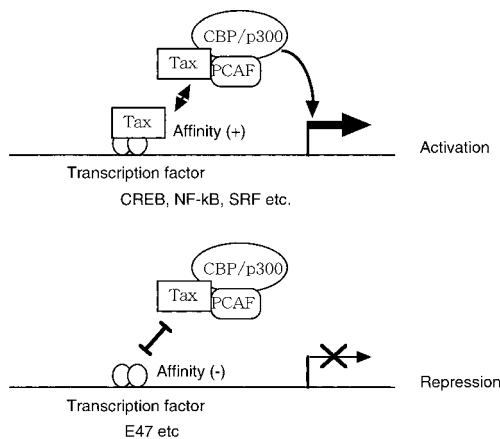


図1 Taxによる転写制御のモデル

- (A) TaxによるLTR21bpエンハンサーの活性化. 21bpエンハンサーは5'と3'にそれぞれGあるいはC-rich配列を持つことが一般の細胞性のCREと異なる. TaxはbZipタンパク質のCREBの塩基性ドメイン内のAAR配列を認識して結合し, エンハンサーのGC-rich配列に結合する.
- (B) Taxによる細胞性遺伝子発現制御. 細胞性遺伝子の転写制御にはTaxと個々の転写因子との親和性およびTaxとCBPとの親和性の二つの要因が関与する. 一般に, 転写因子とTaxの親和性が高い時は転写活性化に至り(上), 低い時は転写因子とTaxとがCBPとの会合で競合し, 転写抑制が起こると考えられる(下).

与え, ウイルスの複製に都合の良い細胞環境を準備する事である.

(1) Taxによる転写の制御

Taxによるウイルス遺伝子発現の活性化機構は詳細に解析されている. ウイルスのエンハンサーは21塩基の反復配列からなり, それらは5'と3'側にそれぞれGあるいはCリッチな配列に挟まれた cyclic AMP response element (CRE) のコア配列を持つ. この21塩基の繰り返し配列に存在するCREには細胞性のbZip転写因子であるCREBおよびATF-1が結合する. このCREB/ATF-1

が結合した21塩基のエンハンサーはTaxの結合を誘導して安定した高次構造の複合体を形成する<sup>14-19</sup>. ここではTaxはCREB/ATF-1の塩基性ドメインに結合し<sup>20-23</sup>, CREコア配列に隣接するGCリッチ配列に会合する. この様にして, TaxのLTR活性化に見られる塩基配列特異性が規定されると考えられている<sup>24-31</sup>. Tax-CREB/ATF-1-21塩基配列の複合体を介して, Taxは更にコアクティベーターであるCREB結合タンパク質(CBP), p300およびCBP-associated factor (P/CAF)をリクルートして, 強力な転写活性化を示す<sup>27, 32-36</sup>. 以上が現在までに明らかにされているTaxによるHTLV-1LTRの転写活性機構である(図1, A).

一方, Taxはウイルスのみならず, 細胞性遺伝子の発現も制御する事が明らかになった. Taxによる細胞性遺伝子の転写制御は, 主に転写因子との相互作用を介して行われる. 標的転写因子の代表的な例は, CREB<sup>15, 37</sup>, NF-κB<sup>38, 39</sup>およびSRF<sup>17, 40</sup>である. Taxは, 更にコアクティベーターCBPとも会合する. 従って, TaxはDNAに結合した転写因子へCBPを拘置して転写を活性化する機能を持つ<sup>33, 34, 36, 41-43</sup>. しかし, ある個別の転写因子とTaxの親和性が低い場合には, TaxとCBPの結合が転写因子とCBPとの会合を競合的に阻害することになり, その転写因子に制御される転写を抑制する事になる<sup>44</sup>(図1, B). 今日までに, 多数の細胞性遺伝子がTaxによる転写制御の標的となる事が示されている. 転写が活性化される遺伝子には以下のようなものがある. IL-6<sup>45</sup>, GM-CSF<sup>46</sup>, およびTGFβ<sup>47</sup>等の種々のリンホカインと, IL-2Rα<sup>48</sup>等のリンフォカインレセプター, 更にはc-fos<sup>49</sup>, c-egr and c-jun<sup>50</sup>等のオンコジーンである. これらは何れも増殖促進に働く遺伝子群であると言える. 従って, Taxによる細胞性遺伝子の転写活性化は感染細胞の効率的な増殖を促進する役割を持つと考えられる. 一方, Taxによって転写が抑制される遺伝子群には, p18INK4<sup>51</sup>, Lck<sup>52</sup>およびneurofibroblastomaの腫瘍抑制遺伝子であるNF-1<sup>53</sup>等が含まれる. これらの遺伝子は多くの場合増殖の抑制に関与するものである. これらをまとめると, Taxによる転写の脱制御の機能的意義は, 全体としては感染細胞の効率的な増殖をもたらす事にあると考えられる.

(2) Taxによるシグナル伝達の制御

Taxは増殖因子のシグナル伝達系の特定の因子と会合し, それを活性化する事が示されている. 具体的にはRas/mitogen-activated protein kinase (MAPK)経路<sup>54</sup>およびprotein kinase A (PKA)とPKC経路である<sup>55</sup>. また, Taxはタンパク質-タンパク質相互作用を介してNF-κBシグナル伝達経路を活性化する. IκB kinase複合体(IKK)に含まれるIKKγとTaxは結合し, IKKの活性化をもたらす<sup>56</sup>とともに, NF-κB2の前駆体であるp105との結合に

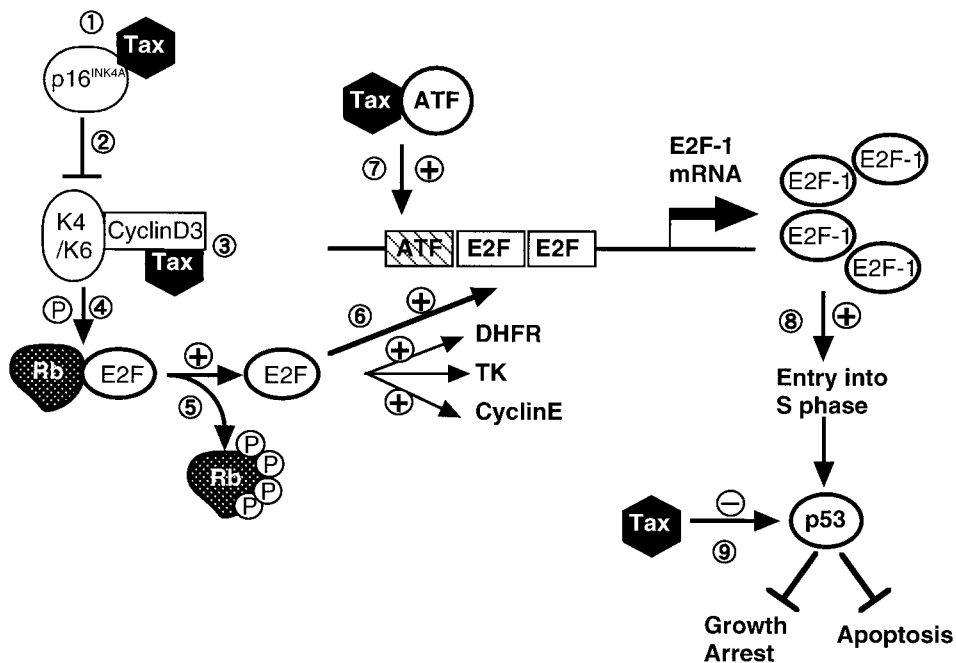


図2 Taxによる細胞周期の制御

Taxはp16INK4Aと会合して①その活性を阻害する②。Taxはcyclin D3とも結合し③、CDK-Cyclin D3複合体を安定化させることから、CDK4あるいはCDK6の活性化が起こり、Rbのリン酸化が促進される④。これによりE2FがRbから乖離し⑤、E2Fの標的遺伝子の転写が活性化される⑥。標的遺伝子に含まれるE2F-1の転写は、更にTaxによりCREB/ATF経路で活性化される⑦。E2F-1の過剰発現が異常なS期への進行を誘導する⑧。しかしp53を介した細胞周期停止やアポトーシスは、Taxによるp53の機能阻害により有効に働かない⑨。(Mesnards and Devaux, *Virology* 257, 277, 1999)による)

より同様にNF- $\kappa$ Bの活性化をもたらす<sup>57)</sup>と報告されている。従って、HTLV-1の感染は感染細胞にシグナル伝達系の異常な活性化をもたらすと考えられる。

### (3) Taxと細胞周期

感染細胞に発現したTaxはタンパク質相互作用を介して細胞周期の調節因子の作用を修飾し細胞周期の進行を促進する。つまり負の制御因子群p53<sup>58-61)</sup>、p16INK4A<sup>51,62,63)</sup>およびp27Kip1<sup>64)</sup>の活性を、主にタンパク質相互作用を介して抑制する。一方、正の制御因子であるcdk4/6<sup>65,66)</sup>、D-type cyclins<sup>65,67)</sup>およびE2F<sup>68)</sup>を活性化するが、この場合もおそらくタンパク質相互作用が関与し、更に転写活性化も関わっていると考えられる (reviewed in Ref.(69))。以上のように、Taxによる遺伝子発現の脱制御は結果としてHTLV-1感染Tリンパ球のgrowth advantageをもたらすと考えられる。

一方、アポトーシスに対するTaxの関与についての報告には混乱がある。種々の系においてTaxの発現がアポトーシスを誘導すると報告された<sup>70-76)</sup>。しかし、一方ではTaxがアポトーシスを阻害するという報告もある<sup>60,77-79)</sup>。HTLV-1感染細胞で実際にどの様になっているのかが問

題であるが、この点は十分明らかでは無い。幼児期の感染初期に多くの感染細胞でTaxの発現によるアポトーシスが誘導され、これに抵抗性の一部の感染細胞が選択されて成人における生体内の感染細胞集団を形成している可能性も考えられる。いずれにしても、TaxがHTLV-1感染細胞をアポトーシス抵抗性にするならば、感染T細胞の増殖と腫瘍化に寄与するであろう。

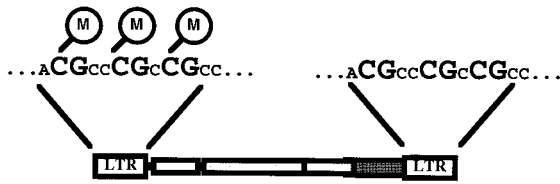
## (II) Taxの腫瘍化における役割

### (1) ATL細胞におけるHTLV-1プロウイルスの状態

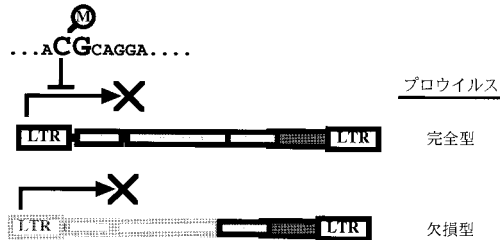
上記の様に、多くの実験的事実がHTLV-1感染細胞の増殖にTaxが重要な役割を果たしている事を示している。では、生体内のATL細胞においてはHTLV-1プロウイルスは遺伝子としてどの様に存在しているのかについてまとめると以下の様になる。

大多数のATL細胞は細胞当たり1コピーのプロウイルスを持っているが、一部には2あるいは3コピーのプロウイルスを持っていると考えられる例が報告されている<sup>80)</sup>。組み込まれているプロウイルスの構造については、古くから欠損型が存在する事が知られていた<sup>4,81)</sup>。その後、欠損型のプロウイルスを持つ症例の割合が約30-40%であるこ

## (A) 潜伏感染HTLV-1プロウイルスの5'-LTR選択的CpGメチル化



## (B) ATL細胞のプロウイルスの発現抑制



## 図3 生体におけるプロウイルスの遺伝子発現制御

- (A) HTLV-1 プロウイルスの遺伝子発現は LTR の CpG メチル化で強く抑制される。キャリアーの生体内の感染細胞では 5'-LTR が選択的に完全にメチル化されている。
- (B) ATL 細胞では、3 から 4 割の患者でプロウイルスの 5' 領域が欠損している。欠損の無い完全型のプロウイルスを持つ場合は 5'-LTR は完全にメチル化されており、いずれの場合もプロウイルスは不活化されている。

と<sup>82,83</sup>、欠損プロウイルスは共通してプロウイルスの 5' 側の gag-pol 領域を欠失しているが、その形態は 5'-LTR が保存されているものと保存されていないものの 2 種が存在する事<sup>83</sup>が明らかにされた。また、欠損プロウイルスは急性型やリンパ腫型に多く見られる傾向や<sup>83</sup>、予後不良の患者に多い事等が報告されている<sup>84</sup>。

更に我々は、ATL 細胞に組み込まれたプロウイルス LTR の CpG メチル化について解析を行った。その結果、潜伏感染している細胞株や無症候性キャリアーの生体内の感染細胞では、5'-LTR の選択的かつ完全な CpG メチル化が認められる事、完全型のプロウイルスを持つ ATL 細胞では、やはり 5'-LTR が完全にメチル化されていること、および 3'-LTR のみを保存する欠損型プロウイルスでは完全に脱メチル化している事を見出した<sup>85</sup>。HTLV-1 LTR のプロモーター活性が CpG メチル化で強力に抑制される事から、以上の結果を総合すると、ATL 細胞におけるプロウイルスはメチル化あるいは遺伝子の欠損によって shut-off されている事を強く示唆するものである (図 3)。従って、生体内における ATL 細胞でのウイルス発現が認められないと言う従来の報告はプロウイルスの構造

及びそのエピジェネティックな修飾状態からも支持されると考えられる。

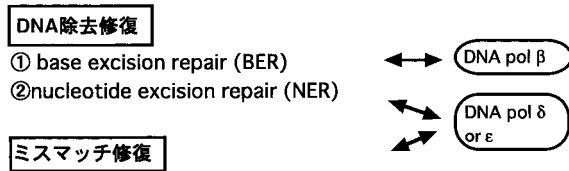
## (2) 腫瘍化における初期過程以後の Tax の関与

腫瘍細胞において HTLV-1 の遺伝子発現が認められない事は、Tax の存在が生体内の ATL 細胞の増殖において必須ではない事を強く示唆する。しかしながら、この事実は感染細胞の腫瘍化の初期化過程における Tax の必須の役割を否定するものではない。多段階発がんモデルに基づくと、むしろ、以下の様に解釈するのが妥当であろう。つまり、「HTLV-1 による細胞の癌化は、Tax の細胞増殖促進機能によってイニシエイトされ、感染細胞の不死化が誘導される。それと同時に、不死化した T リンパ球の更なるプログレッションの基盤がこの過程の中で準備され、その基盤は Tax そのものの物理的な存在には非依存的に有効なものである。」

このような観点から見ると、幾つかの示唆的な知見が報告されている。その一つが、Tax は感染細胞に mutator phenotype を誘導する事により遺伝子変異の誘導に関与する可能性があるとする報告である<sup>86</sup>。実際、Tax 発現による細胞での DNA 損傷の集積が報告されている。Tax を導入した細胞における微小核 (micronuclei) の誘導<sup>87,88</sup>と Tax 発現細胞における細胞遺伝子の変異率の亢進<sup>89</sup>が知られている。細胞遺伝学的な解析では ATL 細胞にはクロソミ染色体異常が観察され、最も頻度の高いものは欠失と転座であると報告されている<sup>90</sup>。ATL 細胞に共通に認められる特異的染色体異常は報告されていないことから<sup>91</sup>、これらの結果は、ATL 発症の過程で DNA 修復機構の脱制御が存在する事を示唆するものと考えられる。

Tax による細胞の DNA 損傷修復機構の阻害に関する具体的な実験的事実は以下の様なものである。DNA の除去修復機構には①base excision repair (BER) と②nucleotide excision repair (NER) の 2 つの主要な経路がある。また、複製の場での修復に含まれるミスマッチ修復があるが、それぞれに関与する DNA polymerase は、BER では DNA Pol $\beta$  であり、NER とミスマッチ修復では DNA Pol $\delta$  あるいは Pole とされている。このうち、Tax は BER に関与する DNA polymerase- $\beta$  の発現を抑制する<sup>92</sup>。実際、HTLV-1 感染細胞において BER は抑制されている事が報告されている<sup>93</sup>。Tax は更に NER も抑制すると考えられる。この場合は Tax による PCNA の発現誘導、それに伴う DNA polymerase  $\delta$  活性の抑制が関与していると考えられる<sup>94-96</sup>。一方、Tax による BclxL の発現誘導は、おそらく RAD51 recombination 経路の抑制を介して相同組み替えの抑制にも関与していると推定される<sup>97,98</sup>。更に、Tax による p53 の機能的抑制<sup>58-60,99</sup>は、HTLV-1 感染細胞が未修復のゲノムの損傷の存在にもかかわらず生存し、かつ増殖する事につながる可能性がある (図 4)。この様に、Tax は細胞

## (A) DNA修復機構と関与するDNA polymerase



## (B) TaxによるDNA修復機構の阻害

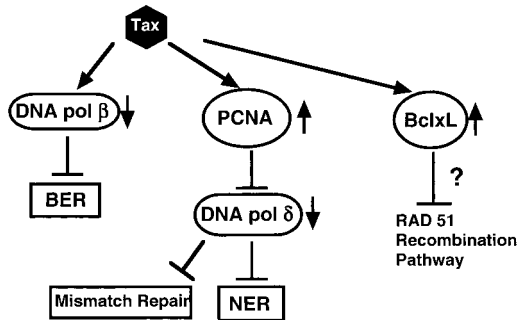


図4 Taxによるゲノム不安定性の誘導

- (A) DNA修復機構と関与するDNA polymerase. DNA除去修復と複製に関与したミスマッチ修復において、関与するDNA polymeraseを示した。
- (B) TaxによるDNA修復機構の阻害. TaxはDNA polymeraseの直接的な発現抑制あるいは他の分子を介した機能の抑制によってDNA修復機構を阻害すると考えられる。また、RAD51を介した組み替えの経路も阻害する可能性がある。

の増殖を直接に促進するばかりでなく、感染細胞に“mutator phenotype”を誘導して細胞内のDNA損傷の蓄積をもたらし、またそのような細胞の生存を可能にする事が推測される。このようなTaxの機能が、多段階発がんの一つの基盤となっている可能性がある。

全体をまとめると、Taxは多くの点で古典的なウイルスのがん遺伝子産物と同様の性質を持つ。つまり、初代培養細胞の不死化能、トランスジェニックマウスでの造腫瘍性、p53やp16INK4A等のがん抑制遺伝子の機能的不活化、DNA修復の阻害等である。しかしながら、これらの初期過程の変化に続く分子機構の実態は未だに不明であり、今後の解析の課題である。

## (Ⅲ) ATL細胞の分子細胞生物学的特徴

## (1) ATL細胞の形態学的特徴

ATL細胞の細胞形態学的なスペクトラムは非常に多様である。しかし、一部の細胞学的特徴は明確でありHTLV-1感染に関する情報が無くてもATL細胞であると推察する事は可能である。診断時に末梢血にATL細胞が認められない場合でも、大部分の患者はその臨床経過の有る時点で白血球化する。末梢血におけるATL細胞は典型的に

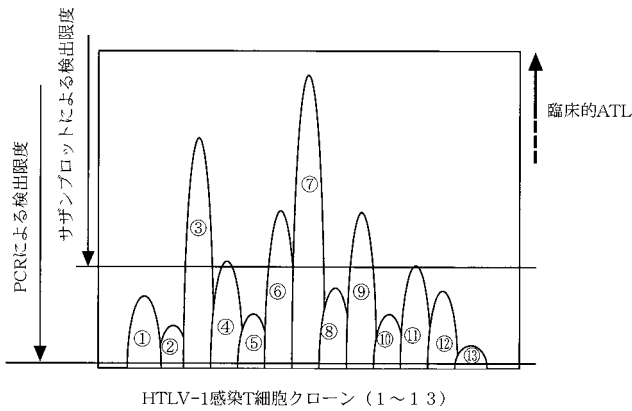
は「花細胞=Flower Cell」と呼ばれ、過分葉してクロマチンの濃縮した核を持ち、普通明確な核小体を示さない。免疫学的には、典型例での膜抗原の発現はCD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>とされるが、CD25やHLA-DRの発現は全例に認められる訳ではない。CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>の例は約10から15%に見られ、CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>あるいはCD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>の症例も報告されている<sup>100,101</sup>。

## (2) ATLはモノクローナルか？

ATL細胞は、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、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事が証明されている事が多い。しかし、実際にポリクローナルなATLは存在しないのだろうか？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ている例が有る。以下に例を挙げる。①CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>とCD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>の2つのクローンが認められた慢性型ATL<sup>102</sup>、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<sup>103,104</sup>、③自然緩解後に異なったクローンによって再発した例<sup>105</sup>、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<sup>106</sup>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発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事を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<sup>104</sup>、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等が挙げられる<sup>107</sup>。従って、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幾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であると考えるのが妥当であると思われる(図5)。

## (3) ATL細胞における遺伝子発現異常

以前からHTLV-1感染細胞やATL細胞での種々のサイトカインおよび接着因子の過剰発現が知られている。一方、これらの分子はHTLV-1の転写調節因子Taxの転写活性化の標的遺伝子となっている事も示されている<sup>108</sup>。最近はこれらのリストの中に種々のケモカインとそのレセプターも含まれる事が報告されている<sup>109-112</sup>。過剰発現遺伝子のうち病態に密接に関係していると考えられるのは、



**図5** HTLV-1 感染細胞のクローナルな増殖とその検出  
感染細胞に組み込まれた HTLV-1 プロウイルスはサザンプロット法や PCR で検出することができる。それぞれの感度は、サザンプロット法が良くても100個の細胞中の5個の感染細胞であり、PCR では感度を上げれば10万個の中の5個から10個の感染細胞が検出出来る。クローン性の増殖は主にサザンプロットで検出されるが、Inverse PCR や Ligation-mediated PCR を用いると高感度で検出可能である。臨床的に ATL と認知される時は、主要なクローンがサザンプロット法で容易に検出することが出来る。

ATL に合併する液性高カルシウム血症 (Humoral Hypercalcemia of malignancy, HHM) が PTHrP の過剰発現によると考えられること<sup>113)</sup>、および、特徴的な臓器浸潤と関係すると考えられる種々の接着分子およびケモカインレセプターの構成的過剰発現であろう<sup>109~112, 114~117)</sup>。この様な ATL 細胞における種々の遺伝子の過剰発現の分子機構を考える際に、2つの事柄に留意すべきであろうと思われる。まず、HTLV-1 感染細胞で過剰発現が認められる遺伝子の中に本来 T リンパ球では発現しないものが含まれる事である<sup>118, 119)</sup>。このような細胞の分化と表現型の枠を外れた“lineage independent”な遺伝子発現の分子機構は注目に値する。次に重大な点は、報告されている遺伝子は殆どが Tax の標的遺伝子であるが、先にも述べたように ATL 細胞においては Tax を含むウイルス遺伝子は発現していないにも関わらず、標的遺伝子の過剰発現が認められる事である。これらの分子機構を明らかにする事は、直接 ATL 細胞の腫瘍化機構と細胞増殖の分子機構に迫りうる可能性が有ると考えられる。

#### (4) レセプターからのシグナル伝達異常と転写因子

近年、HTLV-1 感染細胞株のみならず新鮮 ATL 細胞を用いて、ATL 細胞におけるシグナル伝達異常の報告が見られる。例えば、ATL 細胞における JAK-STAT 系の構成的活性化の報告が代表的な例である<sup>120~123)</sup>。T リンパ球の増殖に必須の IL-2 /IL-2 R のシグナル伝達系の活性化が有るとすれば ATL 細胞の増殖機構に密接に関わっている可能性が考えられる。しかし、その後の報告では必ず

しも一般的では無いとの結果も有り<sup>124)</sup>、どの程度の意義が有るかは更に検討の余地が有りそうである。

核内の転写因子では、調べられた全ての例の ATL 細胞で NF- $\kappa$ B の構成的活性化が認められる<sup>125)</sup>。HTLV-1 Tax は主に IKK $\gamma$  との結合を介して NF- $\kappa$ B を活性化すると考えられる<sup>56)</sup>が、ATL 細胞において Tax 非存在下での IKK-NF- $\kappa$ B 経路の構成的活性化が存在する事になる。現在、その分子機構について多くの研究者が注目して解析が進められている。NF- $\kappa$ B の活性を阻害すると ATL 細胞がアポトーシスに陥る事から<sup>125)</sup>、この NF- $\kappa$ B の活性が ATL 細胞の生存と増殖に必須である事が伺われ、治療を考える上で興味深い知見である。更に ATL 細胞における AP-1 の活性化も報告されている<sup>126)</sup>。しかし、DNA 結合能を示す AP-1 complex の中身は報告されているデータからは明確では無い。また上流の JNK 等の kinase についての情報も明らかにはなっていない。

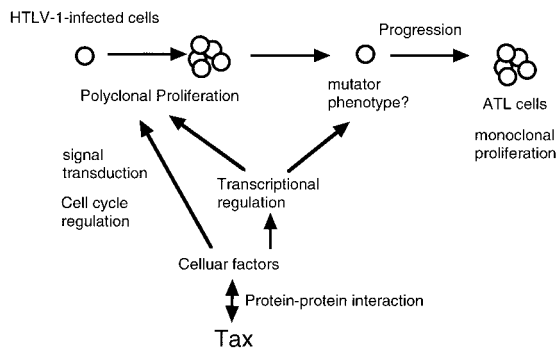
#### (5) 細胞周期調節に関わる分子

先にも述べたように、*in vitro* の実験系では HTLV-1 Tax が細胞周期の制御に関わる分子と相互作用し、細胞周期の進行を促進する事が報告されている<sup>127)</sup>。つまり、Tax が直接あるいは間接に p16INK 4 a, Cyclin D 1, cyclin D 3-cdk および mitotic spindle-assembly check point protein の機能を制御し、細胞周期の進行を促進すると考えられている。実際の生体内の ATL 細胞の細胞周期制御についての情報を整理すると以下の様になる。まず、Ki-67陽性率でみる限り ATL 細胞の増殖は活発であり、特に急性型では Ki-67陽性細胞が約五分の一以上を占める事が報告されている<sup>128)</sup>。従って、ATL 細胞は生体内で比較的活発に細胞増殖をしている事になる。遺伝子レベルの解析では、INK family の遺伝子は高率に欠失あるいはメチル化により失活している事が示されている<sup>129~132)</sup>。しかし、Rb 遺伝子のメチル化は見られず<sup>129)</sup>、また、遺伝子の欠損の頻度は低く点変異は観察されていない<sup>133)</sup>。p53で誘導される CDK inhibitor である p21waf 1 は、全ての例で過剰発現が認められる<sup>134)</sup>。p53はタンパク質レベルでの過剰発現が見られるが機能的には失活しており、変異は20-30%の例で見られるのみである<sup>135~138)</sup>。H-, N-, K-Ras family や c-myc 遺伝子についてはいかなる変異も報告されていない<sup>137)</sup>。従って、これらの情報に基づいて Tax 非存在下の ATL 細胞の細胞周期制御機構の統一的な理解はなかなか困難であると言える。

#### (6) 染色体異常の特徴とその意義

ATL 細胞における染色体異常は、血液系腫瘍としては極めて多彩である事が知られている。しかし、先にも述べたように、特定の組み替えや特定領域の増幅あるいは欠損等と言った特異的変化は今の所無いと考えられてい

## (A) ATL発症機構におけるTaxの関与



## (B) ATL細胞の分子細胞生物学的特徴

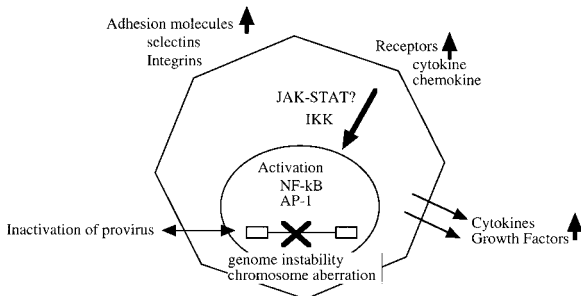


図6 ATL発症機構の概念図

- (A) ATL発症機構におけるTaxの関与。ウイルス感染後早期に発現するTaxは、感染細胞に種々の影響を与え、結果的にポリクローナルな感染細胞の増殖に導く。この中から不死化した感染細胞が出現してくると考えられるが、この過程で癌化のイニシエーションが起こっていると考えられる。これに続く後期ではTax存在に非依存的な過程が関与すると考えられるが、Taxによる「Mutator Phenotypeの誘導」もその一つである可能性がある。
- (B) ATL細胞の分子細胞生物学的特徴。ATL細胞では様々な染色体異常が認められるが、特異的な異常は認められない。プロウイルスはメチル化、ゲノムの欠失あるいは変異により不活化されており、ウイルスタンパク質の発現は無いと考えられる。にもかかわらず、Taxの標的遺伝子が構成的に過剰発現しており、Taxで活性化されるシグナル伝達系の活性化も見られる。

る<sup>139-141)</sup>。染色体異常の存在とその程度は病期の進行に相関する、つまりATL細胞のプログレッションに伴って増加すると考えられている。

前述のものも含めて、TaxによるDNA修復阻害と染色体の数及び質的不安定性の誘導を示す実験結果が報告されている<sup>87-90, 93, 94, 142, 143)</sup>。しかし、ATL細胞そのものについては、限られたマイクロサテライト不安定性の解析等の報告があるものの、実際にDNA修復阻害による異常の蓄積があるかどうかは十分評価出来る様なデータとは言い難い<sup>144-146)</sup>。一方、LOHの解析によるとATL細胞は固形癌細胞に比べ遺伝的にはより安定であるとの報告も有る<sup>147)</sup>。

## おわりに

HTLV-1 Taxの機能に関する基礎的な情報と、ATL細胞の細胞生物学的および分子生物学的な特徴に関する情報を、HTLV-1による感染細胞の腫瘍化あるいはATLの発症機構という観点から整理してみた。図6にATL発症機構の概念図を示す。これまで述べたような、多段階発がん機構の枠組みにおけるTaxの位置付けと、実際にATL細胞で見られる分子細胞生物学的特徴の概略を挙げてある。これでも明らかなように、ATLの発症機構と言う立場から見ると、未だに未解決の問題が多数残されている。多くの実験室内データと実際の腫瘍細胞で観察される現象との間には、多くの矛盾が認められる。このギャップをうめる作業を通じて実際の腫瘍化機構を明らかにしてゆくの、我々研究者の課題であろうと思われる。

## 文 献

- 1) Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, et al, Adult T-cell leukemia: clinical and hematological features of 16 cases. *Blood* **50**: 481-491, 1977
- 2) 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* **79**: 2031-2035, 1982.
- 3) Watanabe T. HTLV-1-associated diseases. *Int J Hematol* **66**: 257-278, 1997
- 4) Yoshida M, Seiki M, Yamaguchi K, Takatsuki K. Monoclonal integration of human T-cell leukemia provirus in all primary tumors of adult T-cell leukemia suggests causative role of human T-cell leukemia virus in the disease. *Proc Natl Acad Sci USA* **81**: 2534-2537, 1984
- 5) Seiki M, Eddy R, Shows TB, Yoshida M. Nonspecific integration of the HTLV provirus genome into adult T-cell leukaemia cells. *Nature* **309**: 640-642, 1984.
- 6) Yoshida M, Suzuki T, Fujisawa J, Hirai H. HTLV-1 oncoprotein tax and cellular transcription factors. *Curr Top Microbiol Immunol* **193**: 79-89, 1995
- 7) Bex F, Gaynor RB. Regulation of gene expression by HTLV-I Tax protein. *Methods* **16**: 83-94, 1998
- 8) 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
- 9) Cann AJ, Rosenblatt JD, Wachsmann W, Shah NP, Chen IS. Identification of the gene responsible for human T-cell leukaemia virus transcriptional regulation. *Nature* **318**: 571-574, 1985.
- 10) Fujisawa J, Seiki M, Kiyokawa T, Yoshida M. Functional activation of the long terminal repeat of human T-cell leukemia virus type I by a trans-acting factor. *Proc Natl Acad Sci USA* **82**: 2277-2281, 1985.
- 11) Fujisawa J, Seiki M, Sato M, Yoshida M. A transcriptional enhancer sequence of HTLV-I is responsible for trans-activation mediated by p40x HTLV-I. *EMBO J* **5**: 713-718, 1986.
- 12) Sodroski J, Rosen C, Goh WC, Haseltine W. A tran-

- scriptional activator protein encoded by the  $\alpha$ -*lcr* region of the human T-cell leukemia virus. *Science* **228** : 1430-1434, 1985.
- 13) Sodroski JG, Goh WC, Rosen CA, et al, trans-Activation of the human T-cell leukemia virus long terminal repeat correlates with expression of the  $\alpha$ -*lcr* protein. *J Virol* **55** : 831-835, 1985.
  - 14) Zhao LJ, Giam CZ. Interaction of the human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) transcriptional activator Tax with cellular factors that bind specifically to the 21-base-pair repeats in the HTLV-I enhancer. *Proc Natl Acad Sci USA* **88** : 11445-11449, 1991.
  - 15) Zhao LJ, Giam CZ. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) transcriptional activator, Tax, enhances CREB binding to HTLV-I 21-base-pair repeats by protein-protein interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* **89** : 7070-7074, 1992.
  - 16) Armstrong AP, Franklin AA, Uittenbogaard MN, Giebler HA, Nyborg JK. Pleiotropic effect of the human T-cell leukemia virus Tax protein on the DNA binding activity of eukaryotic transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA* **90** : 7303-7307, 1993.
  - 17) Suzuki T, Hirai H, Fujisawa J, Fujita T, Yoshida M. A trans-activator Tax of human T-cell leukemia virus type 1 binds to NF- $\kappa$ B p50 and serum response factor (SRF) and associates with enhancer DNAs of the NF- $\kappa$ B site and CArG box. *Oncogene* **8** : 2391-2397, 1993.
  - 18) Wagner S, Green MR. HTLV-I Tax protein stimulation of DNA binding of bZIP proteins by enhancing dimerization. *Science* **262** : 395-399, 1993.
  - 19) Yin MJ, Gaynor RB. Complex formation between CREB and Tax enhances the binding affinity of CREB for the human T-cell leukemia virus type 1 21-base-pair repeats. *Mol Cell Biol* **16** : 3156-3168, 1996.
  - 20) Adya N, Zhao LJ, Huang W, Boros I, Giam CZ. Expansion of CREB's DNA recognition specificity by Tax results from interaction with Ala-Ala-Arg at positions 282-284 near the conserved DNA-binding domain of CREB. *Proc Natl Acad Sci USA* **91** : 5642-5646, 1994.
  - 21) Perini G, Wagner S, Green MR. Recognition of bZIP proteins by the human T-cell leukaemia virus transactivator Tax. *Nature* **376** : 602-605, 1995.
  - 22) Baranger AM, Palmer CR, Hamm MK, et al, Mechanism of DNA-binding enhancement by the human T-cell leukaemia virus transactivator Tax. *Nature* **376** : 606-608, 1995.
  - 23) Yin MJ, Paulssen E, Seeler J, Gaynor RB. Chimeric proteins composed of Jun and CREB define domains required for interaction with the human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein. *J Virol* **69** : 6209-6218, 1995.
  - 24) Datta S, Kothari NH, Fan H. *In vivo* genomic footprinting of the human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) long terminal repeat enhancer sequences in HTLV-1-infected human T-cell lines with different levels of Tax I activity. *J Virol* **74** : 8277-8285, 2000.
  - 25) Kimzey AL, Dynan WS. Identification of a human T-cell leukemia virus type I tax peptide in contact with DNA. *J Biol Chem* **274** : 34226-34232, 1999.
  - 26) Kimzey AL, Dynan WS. Specific regions of contact between human T-cell leukemia virus type I Tax protein and DNA identified by photocross-linking. *J Biol Chem* **273** : 13768-13775, 1998.
  - 27) Lenzmeier BA, Giebler HA, Nyborg JK. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax requires direct access to DNA for recruitment of CREB binding protein to the viral promoter. *Mol Cell Biol* **18** : 721-731, 1998.
  - 28) Lundblad JR, Kwok RP, Laurance ME, et al. Goodman. The human T-cell leukemia virus-1 transcriptional activator Tax enhances cAMP-responsive element-binding protein (CREB) binding activity through interactions with the DNA minor groove. *J Biol Chem* **273** : 19251-19259, 1998.
  - 29) Paca-Uccaralertkun S, Zhao LJ, Adya N, et al. *In vitro* selection of DNA elements highly responsive to the human T-cell lymphotropic virus type I transcriptional activator, Tax. *Mol Cell Biol* **14** : 456-462, 1994.
  - 30) Tang Y, Tie F, Boros I, Harrod R, Glover M, Giam CZ. An extended  $\alpha$ -helix and specific amino acid residues opposite the DNA-binding surface of the cAMP response element binding protein basic domain are important for human T cell lymphotropic retrovirus type I Tax binding. *J Biol Chem* **273** : 27339-27346, 1998.
  - 31) Yin MJ, Gaynor RB. HTLV-1 21 bp repeat sequences facilitate stable association between Tax and CREB to increase CREB binding affinity. *J Mol Biol* **264** : 20-31, 1996.
  - 32) Bex F, Yin MJ, Burny A, Gaynor RB. Differential transcriptional activation by human T-cell leukemia virus type 1 Tax mutants is mediated by distinct interactions with CREB binding protein and p300. *Mol Cell Biol* **18** : 2392-2405, 1998.
  - 33) Harrod R, Tang Y, Nicot C, et al, An exposed KID-like domain in human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax is responsible for the recruitment of coactivators CBP/p300. *Mol Cell Biol* **18** : 5052-5061, 1998.
  - 34) Harrod R, Kuo YL, Tang Y, et al, p300 and p300/cAMP-responsive element-binding protein associated factor interact with human T-cell lymphotropic virus type-1 Tax in a multi-histone acetyltransferase/activator-enhancer complex. *J Biol Chem* **275** : 11852-11857, 2000.
  - 35) Jiang H, Lu H, Schiltz RL, et al, PCAF interacts with tax and stimulates tax transactivation in a histone acetyltransferase-independent manner. *Mol Cell Biol* **19** : 8136-8145, 1999.
  - 36) Kwok RP, Laurance ME, Lundblad JR, et al. Control of cAMP-regulated enhancers by the viral transactivator Tax through CREB and the co-activator CBP. *Nature* **380** : 642-646, 1996.
  - 37) Suzuki T, Fujisawa JI, Toita M, Yoshida M. The trans-activator tax of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) interacts with cAMP-responsive element (CRE) binding and CRE modulator proteins that



- bind to the 21-base-pair enhancer of HTLV-1. *Proc Natl Acad Sci USA* **90** : 610-614, 1993.
- 38) Suzuki T, Hirai H, Yoshida M. Tax protein of HTLV-1 interacts with the Rel homology domain of NF-kappa B p65 and c-Rel proteins bound to the NF-kappa B binding site and activates transcription. *Oncogene* **9** : 3099-3105, 1994.
  - 39) Murakami T, Hirai H, Suzuki T, Fujisawa J, Yoshida M. HTLV-1 Tax enhances NF-kappa B 2 expression and binds to the products p52 and p100, but does not suppress the inhibitory function of p100. *Virology* **206** : 1066-1074, 1995.
  - 40) Fujii M, Tsuchiya H, Chuhjo T, Akizawa T, Seiki M. Interaction of HTLV-1 Tax 1 with p67 SRF causes the aberrant induction of cellular immediate early genes through CARG boxes. *Genes Dev* **6** : 2066-2076, 1992.
  - 41) Giebler HA, Loring JE, van Orden K, et al. Anchoring of CREB binding protein to the human T-cell leukemia virus type 1 promoter : a molecular mechanism of Tax transactivation. *Mol Cell Biol* **17** : 5156-5164, 1997.
  - 42) Lemasson I, Nyborg JK. Human T-cell leukemia virus type I tax repression of p73 beta is mediated through competition for the C/H 1 domain of CBP. *J Biol Chem* **276** : 15720-15727, 2001.
  - 43) Scoggin KE, Ulloa A, Nyborg JK. The oncoprotein Tax binds the SRC-1-interacting domain of CBP/p300 to mediate transcriptional activation. *Mol Cell Biol* **21** : 5520-5530, 2001.
  - 44) Van Orden K, Yan JP, Ulloa A, Nyborg JK. Binding of the human T-cell leukemia virus Tax protein to the coactivator CBP interferes with CBP-mediated transcriptional control. *Oncogene* **18** : 3766-3772, 1999.
  - 45) Mori N, Shirakawa F, Shimizu H, et al. Transcriptional regulation of the human interleukin-6 gene promoter in human T-cell leukemia virus type I-infected T-cell lines : evidence for the involvement of NF-kappa B. *Blood* **84** : 2904-2911, 1994.
  - 46) Green JE, Begley CG, Wagner DK, Waldmann TA, Jay G. trans activation of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and the interleukin-2 receptor in transgenic mice carrying the human T-lymphotropic virus type 1 tax gene. *Mol Cell Biol* **9** : 4731-4737, 1989.
  - 47) Kim SJ, Kehrl JH, Burton J, et al. Transactivation of the transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) gene by human T lymphotropic virus type 1 tax : a potential mechanism for the increased production of TGF-beta 1 in adult T cell leukemia. *J Exp Med* **172** : 121-129, 1990.
  - 48) Inoue J, Seiki M, Taniguchi T, Tsuru S, Yoshida M. Induction of interleukin 2 receptor gene expression by p40x encoded by human T-cell leukemia virus type 1. *EMBO J* **5** : 2883-2888, 1986.
  - 49) Fujii M, Sassone-Corsi P, Verma IM. c-fos promoter trans-activation by the tax 1 protein of human T-cell leukemia virus type I. *Proc Natl Acad Sci USA* **85** : 8526-8530, 1988.
  - 50) Fujii M, Tsuchiya H, Chuhjo T, Minamino T, Miyamoto K, Seiki M. Serum response factor has functional roles both in indirect binding to the CARG box and in the transcriptional activation function of human T-cell leukemia virus type I Tax. *J Virol* **68** : 7275-7283, 1994.
  - 51) Suzuki T, Narita T, Uchida-Toita M, Yoshida M. Down-regulation of the INK 4 family of cyclin-dependent kinase inhibitors by tax protein of HTLV-1 through two distinct mechanisms. *Virology* **259** : 384-391, 1999.
  - 52) Lemasson I, Robert-Hebmann V, Hamaia S, Duc Dodon M, Gazzolo L, Devaux C. Transrepression of lck gene expression by human T-cell leukemia virus type 1-encoded p40tax. *J Virol* **71** : 1975-1983, 1997.
  - 53) Feigenbaum L, Fujita K, Collins FS, Jay G. Repression of the NF 1 gene by Tax may explain the development of neurofibromas in human T-lymphotropic virus type 1 transgenic mice. *J Virol* **70** : 3280-3285, 1996.
  - 54) Pozzatti R, Vogel J, Jay G. The human T-lymphotropic virus type I tax gene can cooperate with the ras oncogene to induce neoplastic transformation of cells. *Mol Cell Biol* **10** : 413-417, 1990.
  - 55) Kadison P, Poteat HT, Klein M, Faller DV. Role of protein kinase A in tax transactivation of the human T-cell leukemia virus type I long terminal repeat. *J Virol* **64** : 2141-2148, 1990.
  - 56) Harhaj EW, Sun SC. IKKgamma serves as a docking subunit of the IkappaB kinase (IKK) and mediates interaction of IKK with the human T-cell leukemia virus Tax protein. *J Biol Chem* **274** : 22911-22914, 1999.
  - 57) Hirai H, Fujisawa J, Suzuki T, et al. Transcriptional activator Tax of HTLV-1 binds to the NF-kappa B precursor p105. *Oncogene* **7** : 1737-1742, 1992.
  - 58) Akagi T, Ono H, Tsuchida N, Shimotohno K. Aberrant expression and function of p53 in T-cells immortalized by HTLV-I Tax 1. *FEBS Lett* **406** : 263-266, 1997.
  - 59) Cereseto A, Diella F, Mulloy JC, et al. p53 functional impairment and high p21 waf1/cip1 expression in human T-cell lymphotropic/leukemia virus type I-transformed T cells. *Blood* **88** : 1551-1560, 1996.
  - 60) Mulloy JC, Kislyakova T, Cereseto A, et al. Human T-cell lymphotropic/leukemia virus type 1 Tax abrogates p53-induced cell cycle arrest and apoptosis through its CREB/ATF functional domain. *J Virol* **72** : 8852-8860, 1998.
  - 61) Pise-Masison CA, Choi KS, Radonovich M, Dittmer J, Kim SJ, Brady JN. Inhibition of p53 transactivation function by the human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax protein. *J Virol* **72** : 1165-1170, 1998.
  - 62) Low KG, Dorner LF, Fernando DB, Grossman J, Jeang KT, Comb MJ. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax releases cell cycle arrest induced by p16INK 4 a. *J Virol* **71** : 1956-1962, 1997.
  - 63) Suzuki T, Kitao S, Matsushime H, Yoshida M. HTLV-1 Tax protein interacts with cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK 4 A and counteracts its inhibitory activity towards CDK 4. *Embo J* **15** : 1607-1614, 1996.

- 64) Cereseto A, Parks RW, Rivadeneira E, Franchini G. Limiting amounts of p27Kip1 correlates with constitutive activation of cyclin E-CDK2 complex in HTLV-I-transformed T-cells. *Oncogene* **18** : 2441-2450, 1999.
- 65) Neuveut C, Low KG, Maldarelli F, et al, Human T-cell leukemia virus type 1 Tax and cell cycle progression : role of cyclin D-cdk and p110Rb. *Mol Cell Biol* **18** : 3620-3632, 1998.
- 66) Schmitt I, Rosin O, Rohwer P, Gossen M, Grassmann R. Stimulation of cyclin-dependent kinase activity and G1-to S-phase transition in human lymphocytes by the human T-cell leukemia/lymphotropic virus type 1 Tax protein. *J Virol* **72** : 633-6340, 1998.
- 67) Santiago F, Clark E, Chong S, et al, Transcriptional up-regulation of the cyclin D2 gene and acquisition of new cyclin-dependent kinase partners in human T-cell leukemia virus type 1-infected cells. *J Virol* **73** : 9917-9927, 1999.
- 68) Ohtani K, Iwanaga R, Arai M, Huang Y, Matsumura Y, Nakamura M. Cell type-specific E2F activation and cell cycle progression induced by the oncogene product Tax of human T-cell leukemia virus type I. *J Biol Chem* **275** : 11154-11163, 2000.
- 69) Mesnard JM, Devaux C. Multiple control levels of cell proliferation by human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein. *Virology* **257** : 277-284, 1999.
- 70) Yamada T, Yamaoka S, Goto T, Nakai M, Tsujimoto Y, Hatanaka M. The human T-cell leukemia virus type I Tax protein induces apoptosis which is blocked by the Bcl-2 protein. *J Virol* **68** : 3374-3379, 1994.
- 71) Chlichlia K, Moldenhauer G, Daniel PT, et al, Immediate effects of reversible HTLV-1 tax function : T-cell activation and apoptosis. *Oncogene* **10** : 269-277, 1995.
- 72) Fujita M, Shiku H. Differences in sensitivity to induction of apoptosis among rat fibroblast cells transformed by HTLV-I tax gene or cellular nuclear oncogenes. *Oncogene* **11** : 15-20, 1995.
- 73) Kitajima I, Nakajima T, Imamura T, et al, Induction of apoptosis in murine clonal osteoblasts expressed by human T-cell leukemia virus type I tax by NF-kappa B and TNF-alpha. *J Bone Miner Res* **11** : 200-210, 1996.
- 74) Chen X, Zachar V, Zdravkovic M, Guo M, Ebbesen P, Liu X. Role of the Fas/Fas ligand pathway in apoptotic cell death induced by the human T cell lymphotropic virus type I Tax transactivator. *J Gen Virol* **78** : 3277-3285, 1997.
- 75) Chlichlia K, Busslinger M, Peter ME, et al, ICE-proteases mediate HTLV-I Tax-induced apoptotic T-cell death. *Oncogene* **14** : 2265-2272, 1997.
- 76) Hall AP, Irvine J, Blyth K, Cameron ER, Onions DE, Campbell ME. Tumours derived from HTLV-I tax transgenic mice are characterized by enhanced levels of apoptosis and oncogene expression. *J Pathol* **186** : 209-214, 1998.
- 77) Copeland KF, Haaksma AG, Goudsmit J, Krammer PH, Heeney JL. Inhibition of apoptosis in T cells expressing human T cell leukemia virus type I Tax. *AIDS Res Hum Retroviruses* **10** : 1259-1268, 1994.
- 78) Brauweiler A, Garrus JE, Reed JC, Nyborg JK. Repression of bax gene expression by the HTLV-1 Tax protein : implications for suppression of apoptosis in virally infected cells. *Virology* **231** : 135-140, 1997.
- 79) Tsukahara T, Kannagi M, Ohashi T, et al, Induction of Bcl-x (L) expression by human T-cell leukemia virus type 1 Tax through NF-kappaB in apoptosis-resistant T-cell transfectants with Tax. *J Virol* **73** : 7981-7987, 1999.
- 80) Kamihira S, Dateki N, Sugahara K, et al, Real-time polymerase chain reaction for quantification of HTLV-1 proviral load : application for analyzing aberrant integration of the proviral DNA in adult T-cell leukemia. *Int J Hematol* **72** : 79-84, 2000.
- 81) Konishi H, Kobayashi N, Hatanaka M. Defective human T-cell leukemia virus in adult T-cell leukemia patients. *Mol Biol Med* **2** : 273-283, 1984.
- 82) Ohshima K, Kikuchi M, Masuda Y, et al, Defective provirus form of human T-cell leukemia type I in adult T-cell leukemia/lymphoma : Clinicopathological features. *Cancer Res* **51** : 4639-4642, 1991.
- 83) Tamiya S, Matsuoka M, Etoh K, et al : Two types of defective human T-lymphotropic virus type I provirus in adult T-cell leukemia. *Blood* **88** : 3065-3073, 1996.
- 84) 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* **89** : 948-956, 1997.
- 85) 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* **76** : 9389-9397, 2002.
- 86) Loeb LA. A mutator phenotype in cancer. *Cancer Res* **61** : 3230-3239, 2001.
- 87) Majone F, Semmes OJ, Jeang KT. Induction of micronuclei by HTLV-I Tax : a cellular assay for function. *Virology* **193** : 456-459, 1993.
- 88) Saggiaro D, Majone F, Forino M, Turchetto L, Leszl A, Chieco-Bianchi L. Tax protein of human T-lymphotropic virus type I triggers DNA damage. *Leuk Lymphoma* **12** : 281-286, 1994.
- 89) Miyake H, Suzuki T, Hirai H, Yoshida M. Trans-activator Tax of human T-cell leukemia virus type 1 enhances mutation frequency of the cellular genome. *Virology* **253** : 155-161, 1999.
- 90) Fujita K, Yamasaki Y, Sawada H, Izumi Y, Fukuhara S, Uchino H. Cytogenetic studies on the adult T-cell leukemia in Japan. *Leuk Res* **13** : 535-543, 1989.
- 91) Sandberg AA. Chromosome abnormalities in human cancer and leukemia. *Mutat Res* **247** : 231-240, 1991.
- 92) Jeang KT, Widen SG, Semmes OJT, Wilson SH. HTLV-I trans-activator protein, tax, is a trans-repressor of the human beta-polymerase gene. *Science* **247** : 1082-1084, 1990.
- 93) Philpott SM, Buehring GC. Defective DNA repair in cells with human T-cell leukemia/bovine leukemia viruses : role of tax gene. *J Natl Cancer Inst* **91** : 933-

- 942, 1999.
- 94) Kao SY, Marriott SJ. Disruption of nucleotide excision repair by the human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein. *J Virol* **73** : 4299-4304, 1999.
  - 95) Lemoine FJ, Kao SY, Marriott SJ. Suppression of DNA repair by HTLV type 1 Tax correlates with Tax trans-activation of proliferating cell nuclear antigen gene expression. *AIDS Res Hum Retroviruses* **16** : 1623-1627, 2000.
  - 96) Ressler S, Morris GF, Marriott SJ. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax transactivates the human proliferating cell nuclear antigen promoter. *J Virol* **71** : 1181-1190, 1997.
  - 97) Nicot C, Mahieux R, Takemoto S, Franchini G. Bcl-X (L) is up-regulated by HTLV-I and HTLV-II *in vitro* and in ex vivo ATLL samples. *Blood* **96** : 275-281, 2000.
  - 98) Saintigny Y, Dumay A, Lambert S, Lopez BS. A novel role for the Bcl-2 protein family : specific suppression of the RAD51 recombination pathway. *EMBO J* **20** : 2596-2607, 2001.
  - 99) Pise-Masison CA, Radonovich M, Sakaguchi K, Appella E, Brady JN. Phosphorylation of p53 : a novel pathway for p53 inactivation in human T-cell lymphotropic virus type 1-transformed cells. *J Virol* **72** : 6348-6355, 1998.
  - 100) Hattori T, Uchiyama T, Toibana T, et al, Surface phenotype of Japanese adult T-cell leukemia cells characterized by monoclonal antibodies. *Blood* **58** : 645-657, 1981
  - 101) Kamihira S, Sohda H, Atogami S, et al, Phenotypic diversity and prognosis of adult T-cell leukemia. *Leukemia Res* **16** : 435-441, 1992
  - 102) Kondo S, Kotani T, Tsumori S et al, Identification of biclonal (duplex) leukemia cells expressing CD 4 + / CD 8 - or CD 4 - / CD 8 + from a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Br J Haematol* **89** : 669-671, 1995
  - 103) 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* **48** : 116-119, 1995
  - 104) 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* **89** : 948-956, 1997
  - 105) Shimamoto Y, Kikuchi M, Funai N, et al, Spontaneous remission in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer* **72** : 735-740, 1993
  - 106) 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* **144** : 1244-1248, 2001
  - 107) 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* **13** : 215-221, 1999.
  - 108) Rosenblatt JD, Miles S, Gasson JC, Prager D. Transactivation of cellular genes by human retroviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* **193** : 25-49, 1995
  - 109) Bertini R, Luini W, Sozzani S, et al, Identification of MIP-1 alpha/LD78 as a monocyte chemoattractant released by the HTLV-1-transformed cell line MT-4. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11** : 155-160, 1995
  - 110) Baba M, Imai T, Yoshida T, Yoshie O. Constitutive expression of various chemokine genes in human T-cell lines infected with human T-cell leukemia virus type 1 : role of the viral transactivator Tax. *Int J Cancer* **66** : 124-129, 1996
  - 111) Hasegawa H, Nomura T, Kohno M, et al, Increased chemokine receptor CCR 7 /EBI 1 expression enhances the infiltration of lymphoid organs by adult T-cell leukemia cells. *Blood* **95** : 30-38, 2000
  - 112) Yoshie O, Fujisawa R, Nakayama T, et al, Frequent expression of CCR 4 in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type 1-transformed T cells. *Blood* **99** : 1505-1511, 2002
  - 113) Watanabe T, Yamaguchi K, Takatsuki K, Osame M, Yoshida M. Constitutive expression of parathyroid hormone-related protein gene in human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) carriers and adult T cell leukemia patients that can be trans-activated by HTLV-1 tax gene. *J Exp Med* **172** : 759-765, 1990
  - 114) Ishikawa T, Imura A, Tanaka K, et al, E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 mediate adult T-cell leukemia cell adhesion to endothelial cells. *Blood* **82** : 1590-1598, 1992
  - 115) Imura A, Hori T, Imada K, et al, The human OX40/gp 34 system directly mediates adhesion of activated T cells to vascular endothelial cells. *J Exp Med* **183** : 2185-2195, 1996
  - 116) Tatewaki M, Yamaguchi K, Matsuoka M, et al, Constitutive overexpression of the L-selectin gene in fresh leukemic cells of adult T-cell leukemia that can be transactivated by human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax. *Blood* **86** : 3109-3117, 1995
  - 117) Uchiyama T, Ishikawa T, Imura A. Cell adhesion molecules in HTLV-I infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* **13** Suppl 1 : S114-118, 1996
  - 118) Koizumi S, Iwanaga M, Imai S, et al, Expression of myeloid cell phenotypes by a novel adult T-cell leukemia/lymphoma cell line. *J Natl Cancer Inst* **84** : 690-693, 1992
  - 119) Tricario M, Macchi B, D' Atri S, et al, *In vitro* infection of CD 4 + T lymphocytes with HTLV-1 generates immortalized cell lines coexpressing lymphoid and myeloid cell markers. *Leukemia* **13** : 222-229, 1999
  - 120) Migone TS, Lin JX, Cereceto A, et al, Constitutively activated Jak-STAT pathway in T cells transformed with HTLV-1. *Science* **269** : 79-81, 1995.
  - 121) Xu X, Kang SH, Heidenreich O, Okerholm M, O'Shea JJ, Nerenberg MI. Constitutive activation of different Jak tyrosine kinases in human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) tax protein or virus-transformed cells. *J Clin Invest* **96** : 1548-1555, 1995.
  - 122) Takemoto S, Mulloy JC, Cereceto A, et al, Prolifera-

- tion of adult T-cell leukemia/lymphoma cells is associated with the constitutive activation of JAK/STAT proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **94** : 13897-13902, 1997
- 123) Nakamura N, Fujii M, Tsukahara T, et al, Human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein induces the expression of STAT 1 and STAT 5 genes in T-cells. *Oncogene* **18** : 2667-2675, 1999.
- 124) Zhang Q, Lee B, Korecka M, et al, Differences in phosphorylation of the IL-2 R associated JAK/STAT proteins between HTLV-1 (+), IL-2-independent and IL-2-dependent cell lines and uncultured leukemic cells from patients with adult T-cell lymphoma/leukemia. *Leuk Res* **23** : 373-384, 1999
- 125) Mori N, Fujii M, Ikeda S, et al, Constitutive activation of NF-kappaB in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood* **93** : 2360-2368, 1999
- 126) Mori N, Fujii M, Iwai K, et al, Constitutive activation of transcription factor AP-1 in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood* **95** : 3915-3921, 2000
- 127) Neuveut C, Jeang KT. HTLV-I Tax and cell cycle progression. *Prog Cell Cycle Res* **4** : 157-162, 2000
- 128) Shirono K, Hattori T, Takatsuki K. A new classification of clinical stages of adult T-cell leukemia based on prognosis of the disease. *Leukemia* **8** : 1834-1837, 1994
- 129) Hofmann WK, Tsukasaki K, Takeuchi N, et al, Methylation analysis of cell cycle control genes in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma* **42** : 1107-1109, 2001
- 130) Nosaka K, Maeda M, Tamiya S, et al, Increasing methylation of the CDKN 2 A gene is associated with the progression of adult T-cell leukemia. *Cancer Res* **60** : 1043-1048, 2000
- 131) Uchida T, Kinoshita T, Murate T, et al, CDKN 2 (MTS 1 /p16INK 4 A) gene alterations in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma* **29** : 27-35, 1998.
- 132) Hatta Y, Hirama T, Miller CW, et al, Homozygous deletions of the p15 (MTS 2) and p16 (CDKN 2 /MTS 1) genes in adult T-cell leukemia. *Blood* **85** : 2699-2704, 1995.
- 133) Hatta Y, Yamada Y, Tomonaga M, Koefler HP. Extensive analysis of the retinoblastoma gene in adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL). *Leukemia* **11** : 984-989, 1997
- 134) de La Fuente C, Santiago F, Chong SY et al, Overexpression of p21 (waf 1) in human T-cell lymphotropic virus type 1-infected cells and its association with cyclin A/cdk 2. *J Virol* **74** : 7270-7283, 2000
- 135) Gartenhouse RB, Wang P. Functional inactivation of wild-type p53 protein correlates with loss of IL-2 dependence in HTLV-1 transformed human T lymphocytes. *Leukemia* **9** : 2082-2086, 1995
- 136) Nagai H, Kinoshita T, Imamura J, et al : Genetic alteration of p53 in some patients with adult T-cell leukemia. *Jpn J Cancer Res* **82** : 1421-1427, 1991.
- 137) Cesarman E, Chadburn A, Inghirami G, et al, Structural and functional analysis of oncogenes and tumor suppressor genes in adult T-cell leukemia/lymphoma shows frequent p53 mutations. *Blood* **80** : 3205-3216, 1992.
- 138) Takemoto S, Trovato R, Cereseto A, et al, p53 stabilization and functional impairment in the absence of genetic mutation or the alteration of the p14 (ARF)-MDM 2 loop in ex vivo and cultured adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Blood* **95** : 3939-3944, 2000
- 139) Sanada I, Tanaka R, Kumagai E, et al, Chromosomal aberrations in adult T cell leukemia : relationship to the clinical severity. *Blood* **65** : 649-654, 1985
- 140) Shimoyama M, Abe T, Miyamoto K, et al, Chromosome aberrations and clinical features of adult T cell leukemia-lymphoma not associated with human T cell leukemia virus type I. *Blood* **69** : 984-989, 1987.
- 141) Itoyama T, Chaganti RS, Yamada Y, et al, Cytogenetic analysis and clinical significance in adult T-cell leukemia/lymphoma : a study of 50 cases from the human T-cell leukemia virus type-1 endemic area, Nagasaki. *Blood* **97** : 3612-3620, 2001
- 142) Kao SY, Lemoine FJ, Marriott SJ. Suppression of DNA repair by human T cell leukemia virus type 1 Tax is rescued by a functional p53 signaling pathway. *J Biol Chem* **275** : 35926-35931, 2000
- 143) Marriott SJ, Lemoine FJ, Jeang KT. Damaged DNA and miscounted chromosomes : human T cell leukemia virus type I tax oncoprotein and genetic lesions in transformed cells. *J Biomed Sci* **9** : 292-298, 2002.
- 144) Hatta Y, Yamada Y, Tomonaga M, et al, Microsatellite instability in adult T-cell leukemia. *Br J Haematol* **101** : 341-344, 1998
- 145) Hayami Y, Komatsu H, Iida S, et al, Microsatellite instability as a potential marker for poor prognosis in adult T cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma* **32** : 345-349, 1999
- 146) Ohshima K, Haraoka S, Yoshioka S, et al, Mutation analysis of mitotic checkpoint genes (hBUB1 and hBUBR1) and microsatellite instability in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Lett* **158** : 141-150, 2000
- 147) Hatta Y, Yamada Y, Tomonaga M, et al, Allelotype analysis of adult T-cell leukemia. *Blood* **92** : 2113-2117, 1998