

図2 ATL患者のMRP発現

【研究発表】

論文発表

- 1) Takebayashi, Y., Natsugoe, S., Baba, M., Akiba, S., Fukumoto, T., Miyadera, K., Yamamoto, Y., Takao, S., Akiyama, S., and Aikou T. Thymidine phosphorylase in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer*, 85: 282-289 (1999)
- 2) Chu, X.-Y., Suzuki, H., Ueda, K., Kato, Y., Akiyama, S., and Sugiyama Y. Active efflux of CPT-11 and its metabolites in human KB-derived cell lines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 288: 753-741 (1999)
- 3) Fukuiwa, T., Takebayashi, Y., Akiba, S., Matsuzaki, T., Hanamura, Y., Miyadera, K., Yamada, Y., and Akiyama, S. Expression of thymidine phosphorylase and vascular

- endothelial cell growth factor in human head and neck squamous cell carcinoma and their different characteristics. *Cancer*, 85: 960-969 (1999)
- 4) Fukuda, S., Shirahama, T., Imazono, Y., Tsushima, T., Ohmori, H., Kayajima, T., Take, S., Nishiyama, K., Yonezawa, S., Akiba, S., Akiyama S., and Ohi, Y. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in testicular germ cell tumors as an indicator of metastatic disease. *Cancer*, 85: 1323-1330 (1999)
 - 5) Chen, Z.-S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Ono, K., Tani, A., Komatsu, M., and Akiyama, S. An enhanced active efflux of CPT-11 and SN-38 in cisplatin-resistant human KB carcinoma cells. *Cancer Lett.*, 138: 13-22 (1999)
 - 6) Ueda, K., Suzuki, H., Akiyama, S., and Sugiyama, Y. Differences in substrate specificity among GS-X pump family members: Comparison between MRP and a novel transporter expressed on a cisplatin-resistant cell line (KCP-4). *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 439-447 (1999).
 - 7) Matsushita, S., Nitanda, T., Furukawa, T., Sumizawa, T., Tani, A., Nishimoto, K., Akiba, S., Miyadera, K., Fukushima, M., Yamada, Y., Yoshida, H., Kanzaki, T., and Akiyama, S. The effect of a thymidine phosphorylase inhibitor on angiogenesis and apoptosis in tumors. *Cancer Res.*, 59: 1911-1961(1999).
 - 8) Chen, Z.S., Furukawa, T., Sumizawa, T., Ono, K., Ueda, K., Seto, K., and Akiyama, S. ATP-dependent efflux of CPT-11 and SN-38 by the multidrug resistance protein (MRP) and its inhibition by PAK-104. *Mol. Pharmacol.* 55: 921-928 (1999).
 - 9) Kitazono, M., Sumizawa, T., Takebayashi, Y., Chen, Z-S., Furukawa, T., Nagayama, S., Tani, A., Takao, S., Aikou, T., and Akiyama S. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-620 cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91: 1647-1653 (1999).
 - 10) Chen, Z-S., Kawabe, T., Ono, M., Aoki, S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Uchiumi, T., Wada, M., Kuwano, M., and Akiyama, S. Effect of multidrug resistance reversing agents on the transporting activity of human canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT). *Mol. Pharmacol.*, 56: 1219-1228 (1999).
 - 11) Aoki, S., Setiawan, A., Yoshida, Y., Higuchi, K., Fudetani, R., Chen, Z-S., Sumizawa, T., Akiyama, S., and Kobayashi, M. Reversal of multidrug resistance in human carcinoma cell line by agosterols, marine sponge sterols. *Tetrahedron*, 55: 13965-13972 (1999).
 - 12) Kawabe, T., Chen, Z-S., Wada, M., Uchiumi T., Ono, M., Akiyama, S., and Kuwano M. Enhanced transport of anticancer agents and leukotriene C4 by the human canalicular multispecific organic anion transporter. *FBES Lett.*, 465: 327-331 (1999).
 - 13) Hasui, K., Sato E., Kitazono M., Akiyama, S., Tanaka, Y., Higashi, M., Taki, C., Sakoda A., Tashiro, Y., and Shirahama, H. Immunohistochemical analysis of thymidine phosphorylase overexpression in malignant lymphomas (ML), especially in adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Dendritic Cells* 9: 15-25 (1999).
 - 14) Arima, J., Imazono, Y., Takebayashi Y., Nishiyama K., Shirahama, T., Akiba, S.,

- Akiyama, S., and Ohi, Y. Expression of thymidine phosphorylase as an indicator of poor prognosis in human transitional cell carcinoma. *Cancer* (in press)
- 15) Shimaoka, S., Matsushita, S., Nitanda, T., Matsuda, A., Nioh, T., Suenaga, T., Nishimata, Y., Akiba, S., and Akiyama, S. Role of thymidine phosphorylase expression in the invasion of gastric carcinomas. *Cancer* (in press)
- 16) Komatsu, M., Sumizawa, T., Mutoh, M., Chen, Z-S., Terada, K., Furukawa, T., Yang, X-L., Hui Gao., Miura, T., Sigiyama T., and Akiyama, S. Copper transporting P-type ATPase (ATP7B) is associated with cisplatin resistance. *Cancer Res.* (in press).

学会発表

- 1) Chen, Z-S., Kawabe, T., Ono, M., Aoki, S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Uchiumi, T., Wada, M., Kuwano, M., and Akiyama, S. Effect of multidrug resistance reversing agents on the transporting activity of human canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT). 癌治療分子標的学会 (ワシントン D.C) 1999 年 11 月 16 日～11 月 19 日
- 2) Kitazono, T., Sumizawa, T., Takebayashi, Y., Tani, A., Chen, Z-S., Furukawa, T., Aikou, T., and Akiyama, S. LRP is involved in multiple drug resistance. 第 90 回アメリカ癌学会総会 (フィラデルフィア) 1999 年 4 月 10 日～4 月 14 日
- 3) Matsushita, S., Nitanda, T., Furukawa, T., Sumizawa, T., Tani, A., Nishimoto, K., Akiba, S., Miyadera, K., Fukushima, M., Yamada, Y., Yoshida, H., Kanzaki, T., and Akiyama, S. The effect of a thymidine phosphorylase inhibitor on angiogenesis and apoptosis in tumors. 第 90 回アメリカ癌学会総会 (フィラデルフィア) 1999 年 4 月 10 日～4 月 14 日
- 4) Chen, Z-S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Ono, K., Tani, A., Komatsu, M., and Akiyama, S. An enhanced active efflux of CPT-11 and SN-38 in cisplatin-resistant human KB carcinoma cells. 第 90 回アメリカ癌学会総会 (フィラデルフィア) 1999 年 4 月 10 日～4 月 14 日
- 5) Kawabe, T., Wada, M., Nakamura, T., Uchiumi, T., Ono, M., Chen, Z-S., Akiyama, S., and Kuwano M. Transfection of human cMOAT/MRP2 cDNA induces altered sensitivity to anticancer agents and membrane transport of glutathione conjugates. 第 90 回アメリカ癌学会総会 (フィラデルフィア) 1999 年 4 月 10 日～4 月 14 日

ATL 治療における分子標的の研究 —HTLV-I 感染細胞における cyclosporin A による Tax 発現抑制と 抗ガン剤 VP-16 に対する感受性の増強作用—

協力研究者：有馬直道（鹿児島大学医学部第一内科学講座講師）

【研究要旨】

昨年度報告した HTLV-I Tax 蛋白発現の抑制作用を有する化学物質を選択する簡便かつ特異的な実験系を用いることにより、免疫抑制剤として知られている cyclosporin A が Tax の発現を抑制することを、HTLV-I LTR CAT DNA 移入 Jurkat 細胞、および K3T 細胞を用いて明らかにした。一方、抗癌剤 VP-16 は HTLV-I 感染細胞である S1T 細胞、Su9T01 細胞、K3T 細胞、および F6T 細胞に容量依存性にアポトーシスを誘導すること、さらに VP-16 に対する感受性が HTLV-I Tax 蛋白により低下することを、S1T 細胞および同細胞に cTax DNA を移入した S1T cTax neo 細胞を用いて DNA ladder 形成法および形態学的観察により明らかにした。

次に Tax 産生 F6T 細胞を用い cyclosporin A 存在下での VP-16 に対する感受性を検討したところ、非存在に比べ著明な感受性の亢進を認めた。また ATL 患者末梢血白血球細胞でも、cyclosporin A により VP-16 に対する感受性の増強作用を認めた。

以前の我々の研究により、急性型 ATL 細胞では Tax が著明に発現することが明らかになっている。従って、少なくとも急性型 ATL においては cyclosporin A は治療薬としての可能性を持つものと考えられる。

【研究目的】

一昨年度の報告で、著者は急性型 ATL 細胞において Tax - NF- κ B 系の著明な活性化がみられることを明かにし、そのことが急性型 ATL 細胞の著しい増殖活性などを引き起こし、ひいては多彩な臨床像の原因となりうることを報告した。さらにこれらることより、特に難治性といわれる急性型 ATL の治療について、Tax 蛋白発現の抑制を標的とした治療戦略の可能性を示した。さらに昨年の研究では、まず Tax 発現の簡便な測定系確立のために、Jurkat 細胞や HTLV-I 感染細胞に HTLV-I LTR CAT cDNA を移入し、Tax 発現を CAT 活性で評価するレポーター細胞を作製し、それを用いて Tax 発現を増強または抑制する化合物の選別が可能になることを報告した。本研究ではその測定系を用いて、免疫抑制剤である cyclosporin A の Tax 産生抑制作用を検討し、さらに ATL 治療薬としても広く用いられている抗癌剤 VP-16 との併用効果について検討した。

【研究方法】

細胞として以下を用いた。

- 1) ATL 患者末梢血単核球より樹立した HTLV-I 感染細胞として、K3T 細胞、F6T 細胞、S1T 細胞、Su9T01 細胞。前 2 細胞株は Tax 産生性、後 2 細胞株は非産生性。
- 2) S1T cTax neo 細胞、S1T 細胞に HTLV-I Tax 発現 plasmid を electroporation 法により移入した細胞。
- 3) Jurkat 細胞に HTLV-I LTR CAT plasmid (PU3RIII) をエレクトロポレーション法により移入した Jurkat LTR CAT 13 細胞。
- 4) K3T 細胞に HTLV-I LTR CAT plasmid (PU3RIII) を移入した K3T LTR CAT 細胞。
- 5) ATL 患者末梢血単核球を末梢血より比重遠心法により分離し、ATL 細胞とした。

Cyclosporin A による Tax 発現の抑制作用については、同剤を 0.1 - 2 μ M 添加 72 時間後に常法どおり CAT 活性を測定し、コントロールに対する抑制率で評価した。

VP-16 の各細胞に対する細胞障害性を検討するために、各細胞に VP-16 を 0.03 - 3 μ g/mL の範囲で投与し、24 時間後の viability をトリパンプルー法で測定した。また VP-16 による apoptosis 誘導を VP-16 投与 8 時間後の細胞より DNA を抽出し、DNA ladder 法で検討した。

VP-16 の細胞障害性に対する各細胞の感受性を Cyclosporin A が低下するか否かを検討する目的で、各細胞 (F6T 細胞および患者 ATL 細胞) に Cyclosporin A 0.2 μ M 存在下で VP-16 を 0.03 - 3 μ g/mL 添加し、24 時間培養後に viability をトリパンプルー法により評価した。

【結果】

1. VP-16 は容量依存性に HTLV-I 感染細胞 (F6T, K3T, Su9T01, S1T) の viability を低下させた。Tax 産生細胞である F6T 細胞と K3T 細胞が非産生細胞 Su9T01 と S1T 細胞に比べ抵抗性を示した。
2. VP-16 による viability の低下は、Tax 産生 S1T cTax neo 細胞では非産生 S1T 細胞より有意に抵抗性がみられた。
3. S1T 細胞では VP-16 による DNA ladder 形成が認められ、VP-16 による細胞障害性は同剤による apoptosis 誘導が関与することが示唆された。一方、S1T cTax neo 細胞では S1T 細胞に比べ VP-16 に対して抵抗性が認められた。
4. cyclosporin A は 0.1 - 2 μ M の範囲で Jurkat LTR CAT 13 細胞および K3T LTR CA 細胞の CAT 活性をそれぞれ 60 ないし 60%抑制した。
5. Tax 産生細胞である F6T 細胞は cyclosporin A 存在下で、VP-16 に対する感受性が有意に亢進した (Fig.1)。また、ATL 患者末梢血由来の白血病細胞も cyclosporin A 存在下で有意に VP-16 に対する感受性が亢進した (Fig. 2)。

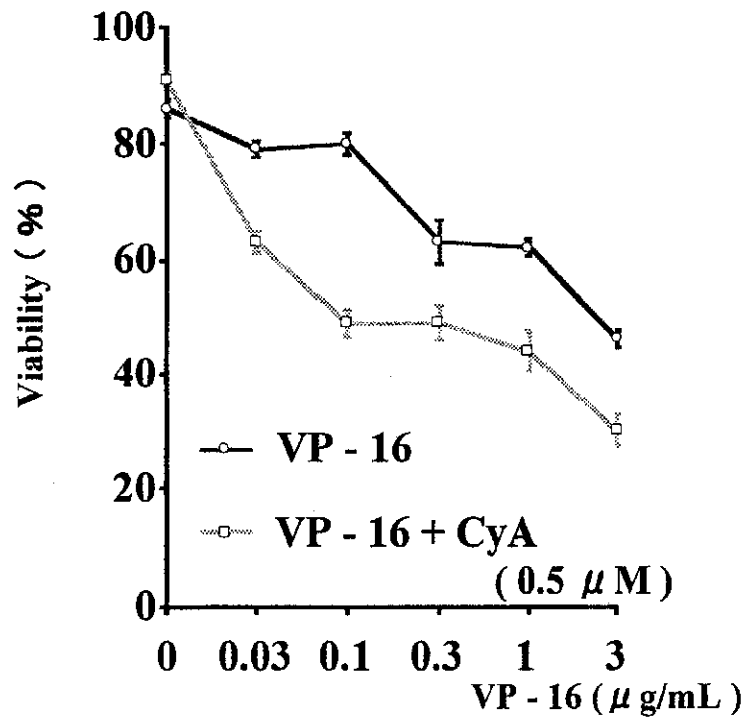


Fig. 1 Cyclosporin A inhibition of VP-16 induced cytotoxicity in F6T cells

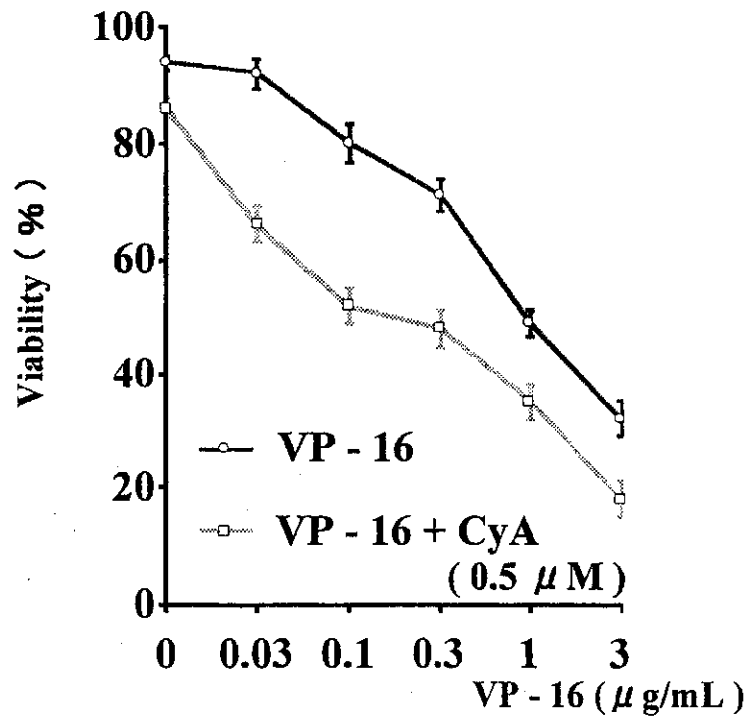


Fig. 2 Cyclosporin A inhibition of VP-16 induced cytotoxicity in primary ATL cells

【考察】

Tax 蛋白は HTLV-I 感染細胞や ATL 白血病細胞において転写因子 NF- κ B や SRF, CREB/ATF を介して多くの細胞遺伝子を活性化することが知られている。その多くは細胞の活性化や増殖に関連しており、サイトカインやその受容体として IL-2, IL-2 receptor α , IL-3, IL4, IL6, GM-CSF, G-CSF, TGF β , IFN β , oncogene として c-fos, c-jun, Egr-1, c-lyn などの遺伝子が報告されている。急性型 ATL における激しい臨床症状は、少なくともその一部は、Tax によりこれら遺伝子の活性化が白血病細胞で引き起こされることに起因していると推測される。これに加えて本研究では、Tax が抗癌剤 VP-16 の apoptosis 抑制作用に対する抵抗性を引き起こすことを、Tax を人工的に発現させた S1T 細胞を用いて証明した。これらのことより Tax 発現の抑制作用を持つ物質は急性型 ATL の治療法たりえる可能性が強く示唆される。

本研究においてはまず免疫抑制剤として臨床的に広く使用されている cyclosporin A が、まず Tax 産生を抑制することを Jurkat LTR CAT 細胞と K3T LTR CAT 細胞を用いて明らかにした。cyclosporin A は cyclophylane 結合蛋白と結合することにより、細胞内の刺激伝達系を阻害して、NFAT-1 その他の転写因子の活性を抑制し、IL-2 などのサイトカインの産生を抑制することで免疫抑制作用を引き起こすことが知られている。この作用と本研究で明らかにされた Tax 産生抑制作用との関連については今後の重要な課題である。

次に、cyclosporin A は抗癌剤 VP-16 の apoptosis 誘導作用に対する感受性を有意に亢進することを、Tax 産生株化 HTLV-I 感染細胞および ATL 患者由来の白血病細胞において明らかにした。既に述べたように、Tax は VP-16 の apoptosis 誘導作用に対して抵抗性を引き起こす。したがって本研究で明らかにされた cyclosporin A と VP-16 の併用効果の一部は cyclosporin A による Tax 産生の抑制によるものと思われる。

ATL は他の悪性リンパ腫と異なり、従来の多剤併用化学療法に対しては極めて難治性であり、現時点では標準となる治療法が確立されていない。臨床的に有用な治療を確立するためには、多方面からの治療法の検討が必要である。今回検討した免疫抑制剤 cyclosporin A を用いる方法は少なくとも試験管内では有望であり、今後その臨床応用についても検討する必要があると考えられる。

【結論】

1. cyclosporin A は Tax の発現を抑制する。
2. VP-16 は HTLV-I 感染細胞において apoptosis を誘導する。
3. Tax は HTLV-I 感染細胞において VP-16 による apoptosis 誘導作用を抑制する。
4. 以上のことより cyclosporin A は他の抗癌剤との併用することにより ATL の治療となりうる。

【研究発表】

(論文発表)

1. Arima N, Matsushita K, Obata H, Ohtsubo H, Fujiwara H, Arimura K, Kukita T, Suruga Y, Wakamatsu S, Hidaka S, Tei C: NF-kB involvement in the activation of primary adult T-cell leukemia cells and its clinical implications. *Experimental Hematology* 1999, 27:1168-75
2. Matsushita K, Arima N, Fujiwara H, Hidaka S, Ohtsubo H, Arimura K, Kukita T, Okamura M, Tei C: Spontaneous regression associated with apoptosis in a patient with acute-type adult T cell leukemia. *American Journal of Hematology* 1999, 61:144-8
3. Matsushita K, Matsumoto T, Ohtsubo H, Fujiwara H, Kukita T, Imamura N, Hidaka S, Matsumoto M, Tei C, Arima N: Long-term maintenance combination chemotherapy with OPEC/MPEC (vincristine or methotrexate, prednisolone, etoposide and cyclophosphamide) or with daily oral etoposide and prednisolone can improve survival and quality of life in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia and Lymphoma* 1999, 36:67-75
4. Fujiwara H, Arima N, Hashimoto T, Matsushita K, Ohtsubo H, Arimura K, Hidaka S, Tei C: Alteration of p16 (CDKN2) gene is associated with interleukin-2-induced tumor cell growth in adult T-cell leukemia. *Experimental Hematology* 1999, 17:1004-9
5. Zhang Q, Lee B, Korecka M, Li G, Weyland C, Eck S, Gessain A, Arima N, Lessin SR, Shaw LM, Luger S, Kamoun M, Wasik MA: Differences in phosphorylation of the IL-2R associated JAK/STAT proteins between HTLV-I (+), IL-2-independent and IL-2-dependent cell lines and uncultured leukemic cells from patients with adult T-cell lymphoma/leukemia. *Leukemia Research* 1999, 23:373-84
6. Ohtsubo H, Arima N, Tei C: Epstein-Barr virus involvement in T-cell malignancy: Significance in adult T cell leukemia. *Leukemia and Lymphoma* 1999, 33:451-8.
7. Fujiwara H, Matsumoto T, Eizuru Y, Matsushita K, Ohtsubo H, Kukita T, Imaizumi R, Matsumoto M, Hidaka S, Arima N, Tei C: Cytomegalovirus infection is not necessarily a poor prognostic factor in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Journal of Medical Virology* (in press)

(学会発表)

1. Matsushita K, Arima N, Ohtsubo H, Arimura K, Kukita T, Fujiwara H, Suruga Y, Hidaka S, Tei C: G-CSF involvement in the growth of primary ATL cells and HTLV-I infected T cells. 9th International Conference on Human Retrovirology, HTLV and Related Viruses. Kagoshima, Japan, April, 1999

2. Arima N, Arimura K, Tokito Y, Matsushita K, Mori H, Ohtsubo H, Fujiwra H, Ozaki A, Hidaka S, Tei C: HTLV-I Tax protein inhibits apoptosis induction but not cell growth inhibition by pyrrolidinedithio-carbamate (PDTC), an anti-oxidant, in adult T cell leukemia cells. 41st Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology, New Orleans, USA, December, 1999
3. Arimura K, Arima N, Matsushita K, Ohtsubo H, Fujiwara H, Kukita T, Ozaki A, Wakamatsu S, Suruga Y, Hidaka S, Tei C: Matrix metalloproteinase inhibitor inhibits apoptosis induction of MDS bone marrow cells. 41st Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology, New Orleans, USA, December, 1999
4. Ozaki A, Arima N, Matsushita K, Tokito Y, Mori H, Arimura K, Ohtsubo H, Fujiwara H, Hidaka S, Tei C: Cyclosporin A inhibits HTLV-I Tax expression and shows anti-tumor effects in combination with VP-16. 41st Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology, New Orleans, USA, December, 1999
5. 松下格司、有馬直道、久木田稔正、大坪秀雄、藤原 弘、有村光生、駿河幸男、日高史郎、鄭 忠和「ワークショップ：ウイルスとリンパ腫」ATLにおける高サイトカイン血症の意義 第61回日本血液学会総会、東京、4月
6. 尾崎厚夫、有馬直道、松下格司、時任裕一、森 広安、有村光生、大坪秀雄、藤原 弘、日高史郎、鄭 忠和 HTLV-I Tax の発現抑制による成人T細胞白血病の治療の可能性について 第41回日本臨床血液学会、秋田、11月。

成人 T 細胞白血病に対する免疫療法の研究 —キメラ化 SF-25 抗体による HTLV-I 感染細胞のアポトーシスの誘導—

協力研究者：花田修一（国立南九州中央病院臨床研究部）

【研究要旨】

ATL の予後改善を目的としてキメラ化 SF-25(c-SF-25) 抗体による免疫療法の可能性を検討した。健常ヒト、寛解期 ATL 患者末梢血リンパ球は、ATL 患者由来 HTLV-1 感染株化 T 細胞の存在下で c-SF-25 抗体を加えると、HTLV-1 感染株化 T 細胞のアポトーシスを誘導する液性因子を産生した。臨床応用に向けてさらに検討中である。

【研究目的】

マウスモノクローナル SF-25 抗体は、高橋ら (Massachusetts General Hospital, Boston) によって作成され、ヒト大腸癌細胞を始めとする腫瘍細胞膜表面の 125K-D の糖蛋白 (SF-25-Ag) を認識することが報告されている。現在までに 1) 細胞膜表面に発現した SF-25Ag は shedding や internalization はおこさない。2) この抗体の Fc 部分をヒト型化したキメラ抗体 (c-SF-25MAb) は、単独ではヒト大腸癌細胞 (LS180) に対して何らの影響も及ぼさない。しかし、LS180 細胞の存在下で健常ヒト末梢血リンパ球 (PBLs) にこの抗体を加えると、健常ヒト PBLs は強い抗体依存性細胞障害を示すのみでなく、TNF- α , Fas-ligand (FasL) 等の種々の細胞障害性サイトカインを産生し、その培養上清は LS180 細胞のアポトーシスを誘導する。3) 健常ヒト PBLs 中の effector として重要な役割を果たしているのは CD16 保有 NK 細胞であることなどが判明し、ヒト大腸癌の免疫療法に向けた研究が行われている。

我々は、c-SF-25MAb の ATL に対する免疫療法の可能性を検討する目的で、c-SF-25MAb は in vitro での HTLV-I 感染株化 T 細胞の増殖にどのような影響を与えるかについて検討してきた。昨年度研究では、1) ATL 細胞は SF-25Ag を発現している。2) SF-25Ag を発現した HTLV-I 感染 T 細胞 (KUT-1 細胞) の存在下で、健常人及び寛解期 ATL 患者 PBLs を c-SF-25MAb で刺激すると HTLV-I 感染 T 細胞のアポトーシスを誘導する液性因子産生する。3) 液性因子の中には TNF- α , INF- γ , sFasL などが検出された。4) ATL 患者末梢血中 CD16 陽性細胞は、治療中は減少しているが、寛解期には回復してくることなどを明らかにした。今年度は検討症例数を増やすとともに、抗ヒト Fas 抗体 sensitive である KUT-1 細胞と、resistant である KUT-2 細胞に対する培養上清の影響を検討した。

【研究方法】

1. 培養上清の作製と細胞障害性サイトカインの測定

健常者 5 例、ATL 患者 10 例（完全寛解 5 例、治療開始時または非寛解 5 例）の PBLs (1×10^6 cells/ml) と 2% パラホルムアルデヒドで固定した KUT-1 細胞 (5×10^5 cells/ml) を c-SF-25 抗体（最終濃度 1μ /ml) の存在下で 24 時間培養し培養上清をえた。コントロールとしてヒト IgG1 を添加して同様に培養上清をえた。培養上清中の細胞障害性サイトカイン (TNF- α , INF- γ , Fas-L) については、市販の ELISA kits を使用して測定した。

2. KUT-1 細胞及び KUT-2 細胞の増殖に及ぼす培養上清及び細胞障害性サイトカインの影響

培養上清及び TNF- α , INF- γ , Fas-L の KUT-1 細胞、KUT-2 細胞のに対する増殖抑制効果の有無を MTT アッセイで測定した。リコンビナント TNF- α 及び INF- γ は最終濃度 1000pg/ml で、抗 Fas 抗体 (CH-11) は最終濃度 10ng/ml、100ng/ml で用いた。また INF- γ の KUT-1 細胞への影響を探る目的で、KUT-1 細胞を 24 時間 INF- γ (1000pg/ml) で前培養した系に TNF- α (1000pg/ml)、抗 Fas 抗体 (10ng/ml) を加え細胞増殖抑制効果の有無を MTT アッセイで解析した。

3. アポトーシス

May-gemsa 染色による形態的同定、アガロースゲル電気泳動による DNA ladder の検索、PE-標識 APO2.7 抗体 (Coulter) によるフローサイトメトリー解析でアポトーシスの同定を行った。

【倫理面への配慮】

細胞の採取にあたっては、研究の意義を十分に説明し同意を得て行った。

【研究結果】

1. 培養上清、細胞傷害性サイトカインによる KUT-1 細胞の増殖抑制効果

c-SF-25 抗体で刺激した健常人、寛解期 ATL 患者由来 PBLs の培養上清は、KUT-1 細胞 (Fig.1) 及び KUT-2 細胞の増殖抑制効果を示した。

2. 培養上清による KUT-1 細胞及び KUT-2 細胞のアポトーシスの誘導

c-SF-25MAb 抗体で PBLs を刺激した培養上清を用いて 72 時間培養した KUT-1 細胞及び KUT-2 細胞は、核の断片化、細胞サイズの縮小などの形態変化を示した。またこれらの細胞から DNA を抽出しアガロースゲル電気泳動を行うと、DNA ladder を認めた。更に培養上清で処理した KUT-1 細胞を APO2.7 抗体と反応させると、時間経過とともに APO2.7 と反応する細胞が増加した (Fig.2)。この方法で、72 時間後にアポトーシスを起こしている判定された KUT-1 細胞は、健常ヒト PBLs 培養上清 (N=5) を用いた場合 $45.1 \pm 7.7\%$ 、寛解期 ATL 患者 PBLs 培養上清 (N=5) で $34.4 \pm 8.3\%$ 、非寛解期 ATL 患者 PBLs 培養上清 (N=5) で、 $13.5 \pm 4.8\%$ であった。

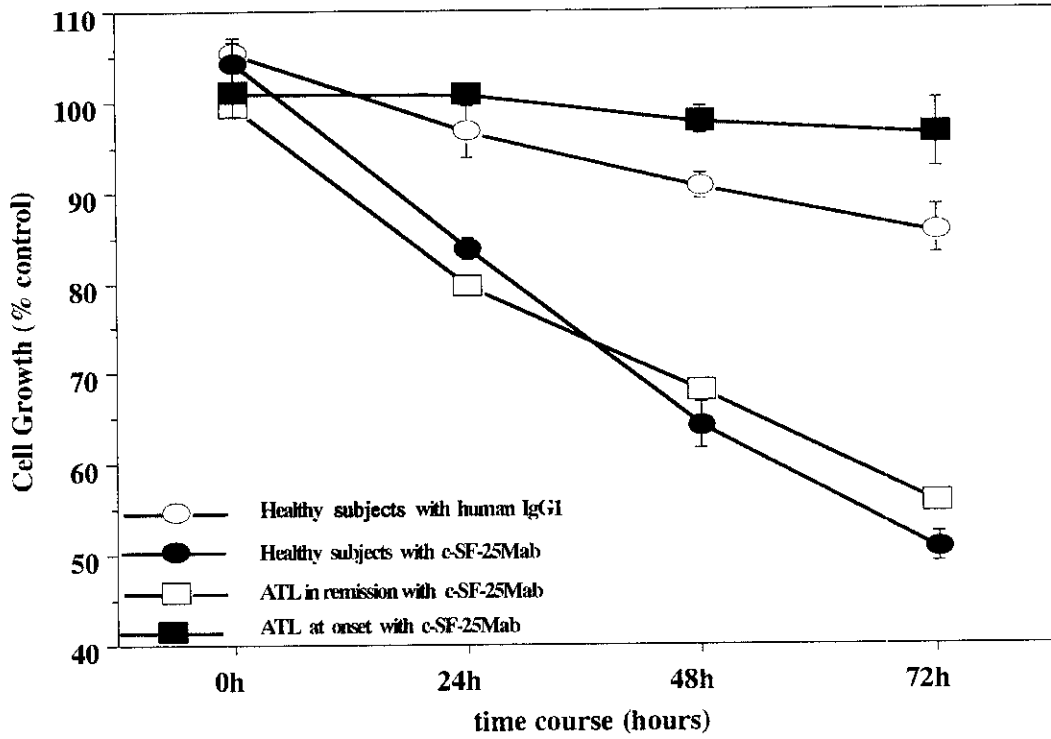


Fig 1. Growth inhibition by Supernatant from PBLs on KUT-1 cells

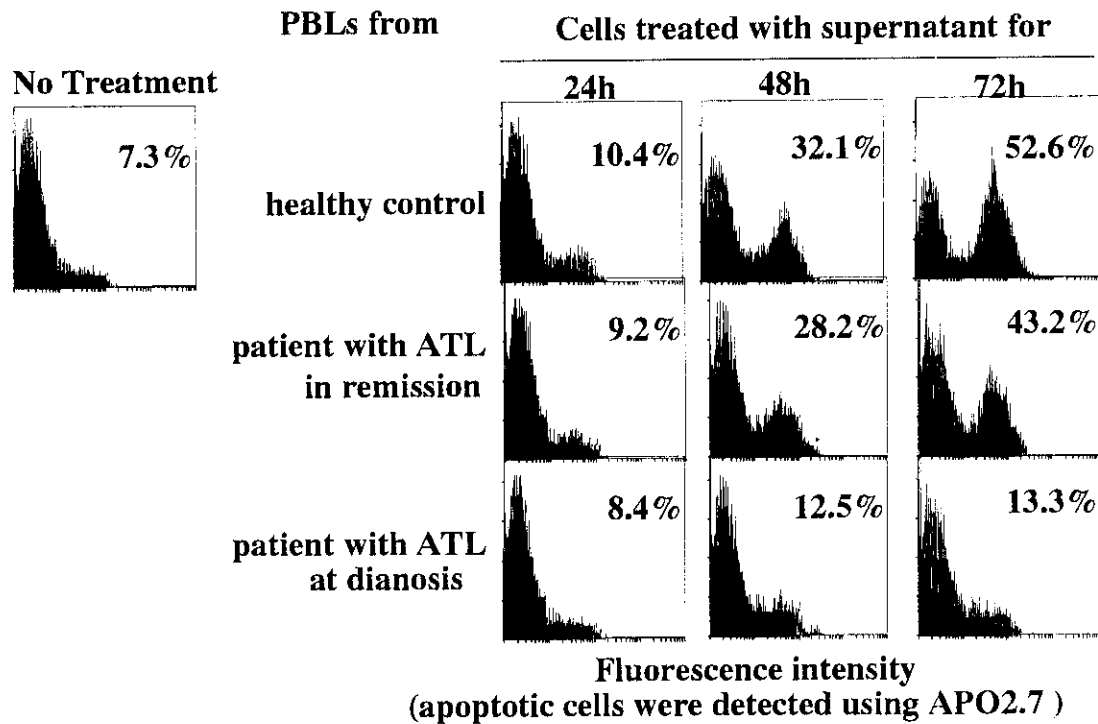


Fig 2. Apoptosis of KUT-1 Cells by Supernatant from PBLs treated with c-SF-25Mab

3. ATL患者及び健常人PBLsによる細胞傷害性サイトカインの産生

パラホルムアルデヒドで固定した KUT-1 細胞の存在下で、c-SF-25 抗体で刺激された健常人及び ATL 患者由来の PBLs は TNF- α 、INF- γ を 1000pg/ml/10⁶ PBLs/24h 以上、sFasL を 700pg/ml/10⁶ PBLs/24h 以上産生した。しかし、非寛解時の ATL 患者由来 PBLs は c-SF-25 抗体で刺激してもこれらの細胞傷害性サイトカインを産生しなかった。リコンビナント TNF- α あるいは 25 抗体で刺激された健常人及び ATL 患者由来の PBLs は TNF- α 、INF- γ を 1000pg/ml/10⁶ PBLs/24h 以上、sFasL を 700pg/ml/10⁶ PBLs/24h 以上産生した。しかし、非寛解時の ATL 患者由来 PBLs は c-SF-25 抗体で刺激してもこれらの細胞傷害性サイトカインを産生しなかった。リコンビナント TNF- α あるいは INF- γ は単独では KUT-1 細胞及び KUT-2 細胞の増殖抑制効果を示さなかった。しかし抗 Fas 抗体は KUT-1 細胞の著明な増殖抑制効果を示し、INF- γ はその効果を増強した。

【考察】

以上より、健常者末梢血リンパ球を、KUT-1 細胞の存在下で c-SF-25MAb を用いて刺激すると、Fas sensitive KUT-1 細胞及び Fas resistant KUT-2 細胞のアポトーシスを誘導する細胞障害性液性因子を産生すること、同時に寛解期 ATL 患者リンパ球も同様の機能を有することが明かとなり、c-SF-25MAb の臨床応用の可能性が示された。またこの液性因子の中には TNF- α 、INF- γ 、Fas-L などが含まれるものの、いずれの細胞障害性サイトカインも単独では KUT-1 細胞及び KUT-2 細胞のアポトーシスを誘導できないことなどが明かとなり、アポトーシスを誘導する物質は TNF- α 、INF- γ 、Fas-L 以外の未知の細胞障害性因子の可能性が示唆された。

【結論】

今後、この液性因子の characterization をすすめるとともに、SF-25 抗原陽性の細胞は ATL 発症のどの段階からでてくるのか、ATL 細胞における SF-25 抗原発現の意義は何かなどを明らかにすることにより臨床応用の可能性が高まるとと思われる。

【研究発表】

学会発表

- 1) Peripheral blood lymphocytes from patients with adult T-cell leukemia in remission induce apoptosis to HTLV-1 infected T-cell lines by activation with chimeric SF-25 antibody. Suzuki S, Hanada S, Ishitsuka K, Uozumi K, Utsunomiya A, Ohno T, Arima T, Takahashi H. 41th Annual Meeting of The American Society of Hematology Dec. 3-7, 1999 New Orleans, LA, USA. Blood Vol 94 No 10 Suppl. 1 248, 1999

平成9年度～11年度
研究成果発表論文リスト

主任研究者：園田俊郎

- 1) Li HC, Yashiki S, Sonoda J, Lou H, Ghosh SK, Byrnes JJ, Lema C, Fujiyoshi T, Karasuyama M, Sonoda S. Green tea polyphenols induce apoptosis in vitro in peripheral blood T lymphocytes of adult T-cell leukemia patients. *Jpn J Cancer Res* 2000 91(1):34-40
- 2) Li HC, Fujiyoshi T, Lou H, Yashiki S, Sonoda S, Cartier L, Nunez L, Munoz I, Horai S, Tajima K. The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. *Nat Med* 1999 5(12):1428-32
- 3) Fujiyoshi T, Li HC, Lou H, Yashiki S, Karino S, Zaninovic V, Oneegillo SG, Camacho M, Andrade R, Hurtado LV, Gomez LH, Damiani E, Cartier L, Dipierri JE, Hayami M, Sonoda S, Tajima K. Characteristic distribution of HTLV type I and HTLV type II carriers among native ethnic groups in South America. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999 15(14):1235-9
- 4) Lou H, Li HC, Kuwayama M, Yashiki S, Fujiyoshi T, Suehara M, Osame M, Yamashita M, Hayami M, Gurtsevich V, Ballas M, Imanishi T, Sonoda S HLA class I and class II of the Nivkhi, an indigenous population carrying HTLV-I in Sakhalin, Far Eastern Russia. *Tissue Antigens* 1998 ;52(5):444-51
- 5) Geng L, Zai N, Xiao Y, Song F, Tanaka A, Lou H, Sonoda S, Kanzaki T. Search for human T-lymphotropic virus type I carriers among northeastern Chinese. *J Dermatol Sci* 1998 ;18(1):30-4
- 6) Manns A, Hanchard B, Morgan OS, Wilks R, Cranston B, Nam JM, Blank M, Kuwayama M, Yashiki S, Fujiyoshi T, Blattner W, Sonoda S. Human leukocyte antigen class II alleles associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection and adult T-cell leukemia/lymphoma in a Black population. *J Natl Cancer Inst* 1998 ;90(8):617-22
- 7) Makino M, Yashiki S, Fujiyoshi T, Baba M, Sonoda S. An expression of anaplastic large cell lymphoma-associated antigens on HTLV-I-infected CD4+ T cells. *Ann Hematol* 1998 ;76(1):31-5
- 8) Hashido M, Lee FK, Nahmias AJ, Inouye S, Miyata K, Nagata Y, Sonoda S, Kawana T. Herpes simplex virus types 1 and 2, chlamydia, syphilis, and toxoplasma in pregnant Japanese women with HTLV-I. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998 J;17(1):95-7
- 9) Takamoto T, Makino M, Azuma M, Kanzaki T, Baba M, Sonoda S HTLV-I-infected T cells activate autologous CD4+ T cells susceptible to HTLV-I infection in a costimulatory molecule-dependent fashion. *Eur J Immunol* 1997 J27(6):1427-32
- 10) Yamano Y, Kitze B, Yashiki S, Usuku K, Fujiyoshi T, Kaminagayoshi T, Unoki K, Izumo S, Osame M, Sonoda S. Preferential recognition of synthetic peptides from HTLV-I gp21 envelope protein by HLA-DRB1 alleles associated with HAM/TSP (HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis). *J Neuroimmunol* 1997 ;76(1-2):50-60
- 11) Kubo K, Fujiyoshi T, Yokoyama MM, Kamei K, Richt JA, Kitze B, Herzog S, Takigawa M, Sonoda S. Lack of association of Borna disease virus and human T-cell leukemia virus type 1 infections with psychiatric disorders among Japanese patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997 ;4(2):189-94

分担研究者：納 光弘

- 1) Matsuoka E, Usuku K, Jonosono M, Takenouchi N, Izumo S, Osame M. CD44 splice variant involvement in the chronic inflammatory disease of the spinal cord: HAM/TSP. *J Neuroimmunol* 2000 ;102(1):1-7
- 2) Saito M, Nakamura N, Nagai M, Shirakawa K, Sato H, Kawahigashi N, Furukawa Y, Usuku K, Nakagawa M, Izumo S, Osame M. Increased levels of soluble Fas ligand in CSF of rapidly progressive HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients. *J Neuroimmunol* 1999 ;98(2):221-6
- 3) Moritoyo T, Izumo S, Moritoyo H, Tanaka Y, Kiyomatsu Y, Nagai M, Usuku K, Sorimachi M, Osame

- M. Detection of human T-lymphotropic virus type I p40tax protein in cerebrospinal fluid cells from patients with human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol* 1999 ;5(3):241-8
- 4) Abe M, Umehara F, Kubota R, Moritoyo T, Izumo S, Osame M. Activation of macrophages/microglia with the calcium-binding proteins MRP14 and MRP8 is related to the lesional activities in the spinal cord of HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol* 1999 46(5):358-64
 - 5) Obama K, Tara M, Sao H, Taji H, Morishima Y, Mougji H, Maruyama Y, Osame M. Allogenic bone marrow transplantation as a treatment for adult T-cell leukemia. *Int J Hematol* 1999 69(3):203-5
 - 6) Nagai M, Usuku K, Matsumoto W, Kodama D, Takenouchi N, Moritoyo T, Hashiguchi S, Ichinose M, Bangham CR, Izumo S, Osame M. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* 1998 ; 4(6):586-93
 - 7) Kawahigashi N, Furukawa Y, Saito M, Usuku K, Osame M. Predominant expression of Fas ligand mRNA in CD8+ T lymphocytes in patients with HTLV-I associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 1998 ; 90(2):199-206
 - 8) Matsuoka E, Takenouchi N, Hashimoto K, Kashio N, Moritoyo T, Higuchi I, Isashiki Y, Sato E, Osame M, Izumo S. Perivascular T cells are infected with HTLV-I in the spinal cord lesions with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: double staining of immunohistochemistry and polymerase chain reaction in situ hybridization. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998 96(4):340-6
 - 9) Umehara F, Okada Y, Fujimoto N, Abe M, Izumo S, Osame M. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998 57(9):839-49
 - 10) Hashimoto K, Higuchi I, Osame M, Izumo S. Quantitative in situ PCR assay of HTLV-1 infected cells in peripheral blood lymphocytes of patients with ATL, HAM/TSP and asymptomatic carriers. *J Neurol Sci* 1998 ;159(1):67-72
 - 11) Eiraku N, Hingorani R, Ijichi S, Machigashira K, Gregersen PK, Monteiro J, Usuku K, Yashiki S, Sonoda S, Osame M, Hall WW. Clonal expansion within CD4+ and CD8+ T cell subsets in human T lymphotropic virus type I-infected individuals. *J Immunol* 1998 ;161(12):6674-80
 - 12) Ijichi S, Ijichi N, Yamano Y, Hall WW, Osame M. Reflux of HTLV-I infected lymphocytes from the privileged compartment(s) to peripheral blood flow in patients with HTLV-I-associated myelopathy. *J Mol Med* 1998 ;76(2):117-25
 - 13) Achiron A, Higuchi I, Takenouchi N, Matsuoka E, Hashimoto K, Izumo S, Shohat B, Osame M. Detection of HTLV type I provirus by in situ polymerase chain reaction in mouthwash mononuclear cells of HAM/TSP patients and HTLV type I carriers. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1997 ;13(12):1067-70
 - 14) Machigashira K, Ijichi S, Nagai M, Yamano Y, Hall WW, Osame M. In vitro virus propagation and high cellular responsiveness to the infected cells in patients with HTLV-I-associated myelopathy (HAM/TSP). *J Neurol Sci* 1997 ;149(2):141-5
 - 15) Osame M, Nakagawa M, Umehara F, Ijichi S, Moritoyo T, Higuchi I, Usuku K, Arimura K, Izumo S. Recent studies on the epidemiology, clinical features and pathogenic mechanisms of HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP) and other diseases associated to HTLV. *J Neurovirol* 1997 Suppl 1:S50-1
 - 16) Izumo S, Umehara F, Kashio N, Kubota R, Sato E, Osame M. Neuropathology of HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP). *Leukemia* 1997 ;11 Suppl 3:82-4
 - 17) Osame M, Arimura K, Nakagawa M, Umehara F, Usuku K, Ijichi S. HTLV-I associated myelopathy (HAM): review and recent studies. *Leukemia* 1997 ;11 Suppl 3:63-4

分担研究者：永田行博

- 1) Fujino T, Iwamoto I, Otsuka H, Ikeda T, Takesako S, Nagata Y Apoptosis in placentas from human T-lymphotropic virus type I-seropositive pregnant women: a possible defense mechanism against transmission from mother to fetus. *Obstet Gynecol* 1999 ;94(2):279-83
- 2) Hashido M, Lee FK, Nahmias AJ, Inouye S, Miyata K, Nagata Y, Sonoda S, Kawana T Herpes simplex virus types 1 and 2, chlamydia, syphilis, and toxoplasma in pregnant Japanese women with HTLV-I. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998 ;17(1):95-7

協力研究者：有馬直道

- 1) Arima N, Matsushita K, Obata H, Ohtsubo H, Fujiwara H, Arimura K, Kukita T, Suruga Y, Wakamatsu S, Hidaka S, Tei C: NF- κ B involvement in the activation of primary adult T-cell leukemia cells and its clinical implications. *Experimental Hematology* 1999, 27:1168-75
- 2) Matsushita K, Arima N, Fujiwara H, Hidaka S, Ohtsubo H, Arimura K, Kukita T, Okamura M, Tei C: Spontaneous regression associated with apoptosis in a patient with acute-type adult T cell leukemia. *American Journal of Hematology* 1999, 61:144-8
- 3) Matsushita K, Matsumoto T, Ohtsubo H, Fujiwara H, Kukita T, Imamura N, Hidaka S, Matsumoto M, Tei C, Arima N: Long-term maintenance combination chemotherapy with OPEC/MPEC (vincristine or methotrexate, prednisolone, etoposide and cyclophosphamide) or with daily oral etoposide and prednisolone can improve survival and quality of life in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia and Lymphoma* 1999, 36:67-75
- 4) Fujiwara H, Arima N, Hashimoto T, Matsushita K, Ohtsubo H, Arimura K, Hidaka S, Tei C: Alteration of p16 (CDKN2) gene is associated with interleukin-2-induced tumor cell growth in adult T-cell leukemia. *Experimental Hematology* 1999, 17:1004-9
- 5) Zhang Q, Lee B, Korecka M, Li G, Weyland C, Eck S, Gessain A, Arima N, Lessin SR, Shaw LM, Luger S, Kamoun M, Wasik MA: Differences in phosphorylation of the IL-2R associated JAK/STAT proteins between HTLV-I (+), IL-2-independent and IL-2-dependent cell lines and uncultured leukemic cells from patients with adult T-cell lymphoma/leukemia. *Leukemia Research* 1999, 23:373-84
- 6) Ohtsubo H, Arima N, Tei C: Epstein-Barr virus involvement in T-cell malignancy: Significance in adult T cell leukemia. *Leukemia and Lymphoma* 1999, 33:451-8.
- 7) Fujiwara H, Matsumoto T, Eizuru Y, Matsushita K, Ohtsubo H, Kukita T, Imaizumi R, Matsumoto M, Hidaka S, Arima N, Tei C: Cytomegalovirus infection is not necessarily a poor prognostic factor in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Journal of Medical Virology* (in press)
- 8) Matsushita K, Arima N Involvement of granulocyte colony-stimulating factor in proliferation of adult T-cell leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 1998 ;31(3-4):295-304
- 9) Arima N Autonomous and interleukin-2-responsive growth of leukemic cells in adult T-cell leukemia (ATL): a review of the clinical significance and molecular basis of ATL cell growth. *Leuk Lymphoma* 1997 ;26(5-6):479-87
- 10) Ohtsubo H, Arima N, Matsushita K, Hidaka S, Fujiwara H, Arimura K, Kukita T, Fukumori J, Matsumoto T, Eizuru Y, Tanaka H Human T lymphotropic virus-type I Tax induction of CD21/Epstein-Barr virus receptor expression on T cells and its significance in leukemogenesis of adult T cell leukemia. *Exp Hematol* 1997 ;25(12):1246-52
- 11) Matsushita K, Arima N, Ohtsubo H, Fujiwara H, Hidaka S, Fukumori J, Tanaka H Frequent expression of interleukin-9 mRNA and infrequent involvement of interleukin-9 in proliferation of primary adult T-cell

協力研究者：出雲周二

- 1) Matsuoka E, Usuku K, Jonosono M, Takenouchi N, Izumo S, Osame M. CD44 splice variant involvement in the chronic inflammatory disease of the spinal cord: HAM/TSP. *J Neuroimmunol* 2000 ; 102(1):1-7
- 2) Saito M, Nakamura N, Nagai M, Shirakawa K, Sato H, Kawahigashi N, Furukawa Y, Usuku K, Nakagawa M, Izumo S, Osame M. Increased levels of soluble Fas ligand in CSF of rapidly progressive HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients. *J Neuroimmunol* 1999 ;98(2):221-6
- 3) Moritoyo T, Izumo S, Moritoyo H, Tanaka Y, Kiyomatsu Y, Nagai M, Usuku K, Sorimachi M, Osame M. Detection of human T-lymphotropic virus type I p40tax protein in cerebrospinal fluid cells from patients with human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol* 1999 ;5(3):241-8
- 4) Abe M, Umehara F, Kubota R, Moritoyo T, Izumo S, Osame M. Activation of macrophages/microglia with the calcium-binding proteins MRP14 and MRP8 is related to the lesional activities in the spinal cord of HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol* 1999 46(5):358-64
- 5) Nagai M, Usuku K, Matsumoto W, Kodama D, Takenouchi N, Moritoyo T, Hashiguchi S, Ichinose M, Bangham CR, Izumo S, Osame M. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* 1998 ; 4(6):586-93
- 6) Matsuoka E, Takenouchi N, Hashimoto K, Kashio N, Moritoyo T, Higuchi I, Isashiki Y, Sato E, Osame M, Izumo S. Perivascular T cells are infected with HTLV-I in the spinal cord lesions with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: double staining of immunohistochemistry and polymerase chain reaction in situ hybridization. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998 96(4):340-6
- 7) Umehara F, Okada Y, Fujimoto N, Abe M, Izumo S, Osame M. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998 57(9):839-49
- 8) Hashimoto K, Higuchi I, Osame M, Izumo S. Quantitative in situ PCR assay of HTLV-I infected cells in peripheral blood lymphocytes of patients with ATL, HAM/TSP and asymptomatic carriers. *J Neurol Sci* 1998 ;159(1):67-72
- 9) Achiron A, Higuchi I, Takenouchi N, Matsuoka E, Hashimoto K, Izumo S, Shohat B, Osame M. Detection of HTLV type I provirus by in situ polymerase chain reaction in mouthwash mononuclear cells of HAM/TSP patients and HTLV type I carriers. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1997 ;13(12):1067-70
- 10) Osame M, Nakagawa M, Umehara F, Ijichi S, Moritoyo T, Higuchi I, Usuku K, Arimura K, Izumo S. Recent studies on the epidemiology, clinical features and pathogenic mechanisms of HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP) and other diseases associated to HTLV. *J Neurovirol* 1997 Suppl 1:S50-1
- 11) Izumo S, Umehara F, Kashio N, Kubota R, Sato E, Osame M. Neuropathology of HTLV-I-associated myelopathy (HAM/TSP). *Leukemia* 1997 ;11 Suppl 3:82-4

協力研究者：宇都宮 興

- 1) Utsunomiya A, Takatsuka Y and Uozumi K. Stem cell transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Hematology & Oncology* 40(4): 326-33 (2000).
- 2) Kawabata H, Utsunomiya A, Hanada S, Makino T, Takatsuka Y, Takeuchi S, Suzuki S, Suzumiya J, Ohshima K, Horiike S. Myelodysplastic syndrome in a patient with adult T-cell leukaemia. *Br J*

Haematol 1999 ;106(3):702-5

- 3) Hayami Y, Komatsu H, Iida S, Utsunomiya A, Hanada S, Hua XJ, Huiping N, Harada S, Tsuboi K, Banno S, Wakita A, Kato T, Ueda R Microsatellite instability as a potential marker for poor prognosis in adult T cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1999 ;32(3-4):345-9
- 4) Ishitsuka K, Hanada S, Suzuki S, Utsunomiya A, Chyuman Y, Takeuchi S, Takeshita T, Shimotakahara S, Uozumi K, Makino T, Arima T Arsenic trioxide inhibits growth of human T-cell leukaemia virus type I infected T-cell lines more effectively than retinoic acids. *Br J Haematol* 1998 ;103(3):721-8
- 5) Nakahara K, Utsunomiya A, Hanada S, Takeshita T, Uozumi K, Yamamoto K, Komatsu H, Nitta M, Ueda R, Tatsumi E, Arima T Transient appearance of CD3+CD8+ T lymphocytes with monoclonal gene rearrangement of T-cell receptor beta locus. *Br J Haematol* 1998 ;100(2):411-4
- 6) Takizawa J, Suzuki R, Kuroda H, Utsunomiya A, Kagami Y, Joh T, Aizawa Y, Ueda R, Seto M Expression of the TCL1 gene at 14q32 in B-cell malignancies but not in adult T-cell leukemia. *Jpn J Cancer Res* 1998 ;89(7):712-8
- 7) Hanada S, Utsunomiya A, Suzuki S, Uozumi K, Makino T, Arima T Treatment for adult T-cell leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997;40 Suppl:S47-50

協力研究者：蓮井和久

- 1) 蓮井和久、佐藤榮一、田中勇悦、屋敷伸治、賈心善、出雲周二. HTLV-1 関連疾患病変に於ける HTLV-1 proviral DNA とそのシグナル mRNA や関連蛋白を検出する組織化学の現状. *日本リンパ網内系学会会誌* 39 (1) : 33-43、1999
- 2) 蓮井和久、佐藤榮一、東美智代、高城千彰、末吉和宣、中村敬夫、田中貞夫. HTLV-1 と消化管病変, *胃と腸* 34(7): 873-881, 1999
- 3) Kazuhisa Hasui, Eiichi Sato, Michiyo Higashi, Michiko Horinouchi, Shuichi Hanada, Shinji Yashiki, Shuji Izumo, Shunro Sonoda, Mitsuhiro Osame. Expression of E2F Transcription Factors in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma cells in vivo; A Highly Sensitive Immunohistochemical Study. *Lymphoreticular Cells and Diseases. Proceedings of the Sixth Japanese-Korean Lymphoreticular Workshop*, Akagi T, Ree HJ eds. Lymphoreticular Study Group, Department of Pathology, Okayama University Medical School. Okayama, Japan, March 1999, p89-101
- 4) Hasui, K., Sato E., Kitazono M., Akiyama, S., Tanaka, Y., Higashi, M., Taki, C., Sakoda A., Tashiro, Y., and Shirahama, H. Immunohistochemical analysis of thymidine phosphorylase overexpression in malignant lymphomas (ML), especially in adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Dendritic Cells* 1999, 9: 15-25.

協力研究者：花田修一

- 1) Kawabata H, Utsunomiya A, Hanada S, Makino T, Takatsuka Y, Takeuchi S, Suzuki S, Suzumiya J, Ohshima K, Horiike S. Myelodysplastic syndrome in a patient with adult T-cell leukaemia. *Br J Haematol* 1999 ;106(3):702-5
- 2) Hayami Y, Komatsu H, Iida S, Utsunomiya A, Hanada S, Hua XJ, Huiping N, Harada S, Tsuboi K, Banno S, Wakita A, Kato T, Ueda R Microsatellite instability as a potential marker for poor prognosis in adult T cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1999 ;32(3-4):345-9
- 3) Ishitsuka K, Hanada S, Suzuki S, Utsunomiya A, Chyuman Y, Takeuchi S, Takeshita T, Shimotakahara S, Uozumi K, Makino T, Arima T Arsenic trioxide inhibits growth of human T-cell leukaemia virus type I infected T-cell lines more effectively than retinoic acids. *Br J Haematol* 1998 ;103(3):721-8
- 4) Nakahara K, Utsunomiya A, Hanada S, Takeshita T, Uozumi K, Yamamoto K, Komatsu H, Nitta M, Ueda

- R, Tatsumi E, Arima T Transient appearance of CD3+CD8+ T lymphocytes with monoclonal gene rearrangement of T-cell receptor beta locus. *Br J Haematol* 1998 ;100(2):411-4
- 5) Uozumi K, Nakahara K, Takatsuka Y, Ohno N, Makino T, Utsunomiya A, Hanada S, Arima T Granulocyte colony-stimulating factor in the combination chemotherapy for adult T-cell leukemia (ATL). *Leuk Lymphoma* 1998 ;29(3-4):407-14
 - 6) Hanada S, Utsunomiya A, Suzuki S, Uozumi K, Makino T, Arima T Treatment for adult T-cell leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997;40 Suppl:S47-50

協力研究者：瀬戸山 充

- 1) Setoyama M, Katahira Y, Kanzaki T. Clinicopathologic analysis of 124 cases of adult T-cell leukemia/lymphoma with cutaneous manifestations: the smouldering type with skin manifestations has a poorer prognosis than previously thought. *J Dermatol* 1999 ;26(12):785-90
- 2) Setoyama M, Mizoguchi S, Eizuru Y Human T-cell lymphotropic virus type I infects eccrine sweat gland epithelia. *Int J Cancer* 1999 ;80(5):652-5
- 3) Setoyama M, Mizoguchi S, Kanzaki T Prurigo as a clinical prodrome to adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Br J Dermatol* 1998 J;138(1):137-40
- 4) Setoyama M, Kerdel FA, Elgart G, Kanzaki T, Byrnes JJ Detection of HTLV-1 by polymerase chain reaction in situ hybridization in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Am J Pathol* 1998 ;152(3):683-9
- 5) Takezaki T, Setoyama M, Takezaki T, Takei S, Yashiki S, Sueyoshi K, Fukunaga H Spontaneous proliferative response of peripheral blood mononuclear cells in vitro as an indicator of high response to human T-lymphotropic virus type I infection in an infant with interstitial pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 1998 ;17(2):166-8
- 6) Setoyama M, Katahira Y, Kanzaki T, Kerdel FA, Byrnes JJ Adult T-cell leukemia/lymphoma associated with noninfectious epithelioid granuloma in the skin: a clinicopathologic study. *Am J Dermatopathol* 1997 ;19(6):591-5
- 7) Setoyama M, Yamamoto S, Kanzaki T Adult T-cell leukemia/lymphoma presenting with digital gangrene. *Dermatology* 1997;195(2):150-2
- 8) Ohtake N, Setoyama M, Fukumaru S, Kanzaki T. A case of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) with angiocentric and angiodestructive features. *J Dermatol* 1997 ;24(3):165-9

協力研究者：小澤政之

- 1) Kawamura-Kodama K, Tsutsui J, Suzuki ST, Kanzaki T, Ozawa M. N-cadherin expressed on malignant T cell lymphoma cells is functional, and promotes heterotypic adhesion between the lymphoma cells and mesenchymal cells expressing N-cadherin. *J Invest Dermatol* 1999 ;112(1):62-6