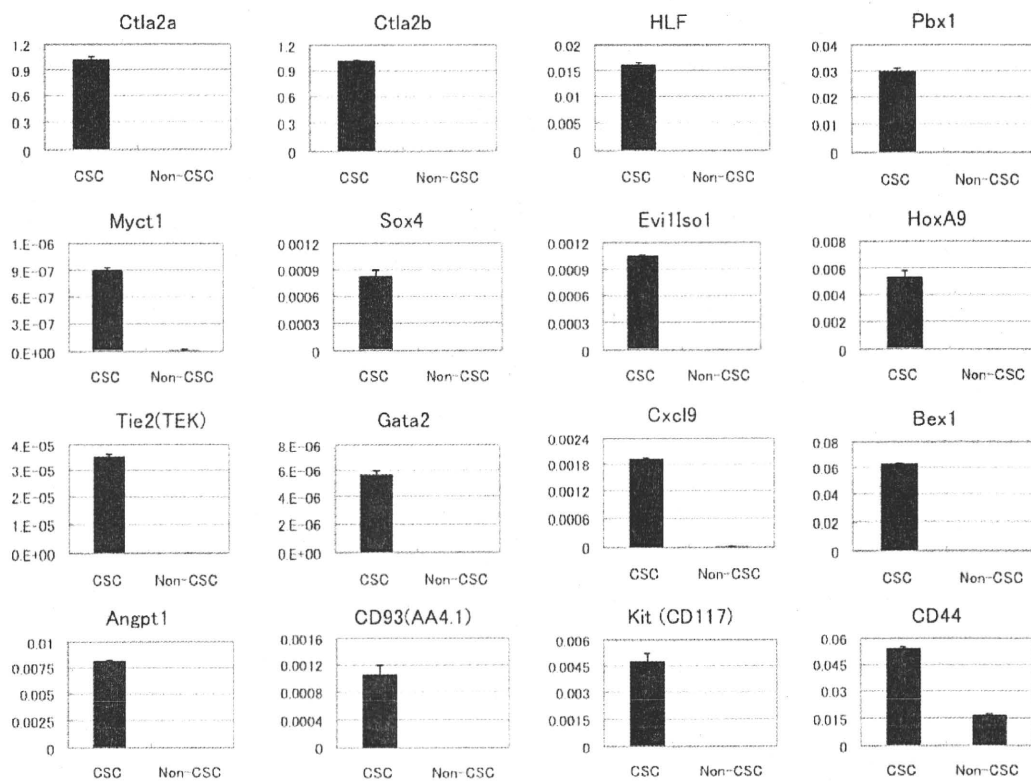


A



B

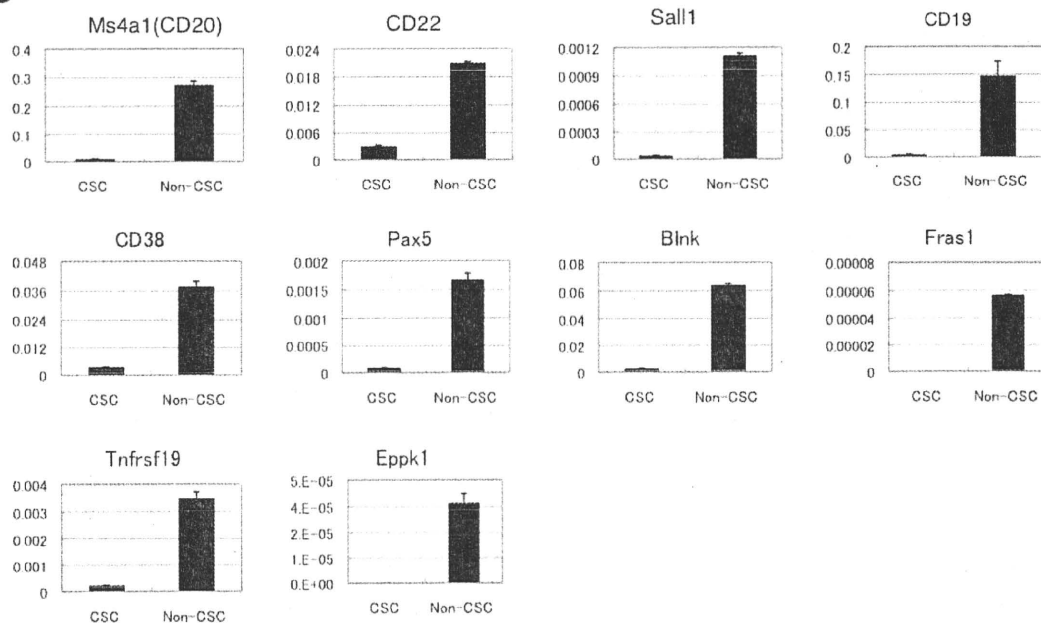


図 2 : q-PCR によるマイクロアレイ解析結果の検証。マイクロアレイ解析の結果、変動が認められた遺伝子の発現量をリアルタイム PCR により定量した。A : マイクロアレイにより CSC において発現の亢進が認められた遺伝子。B : マイクロアレイにより CSC において発現の抑制が認められた遺伝子。

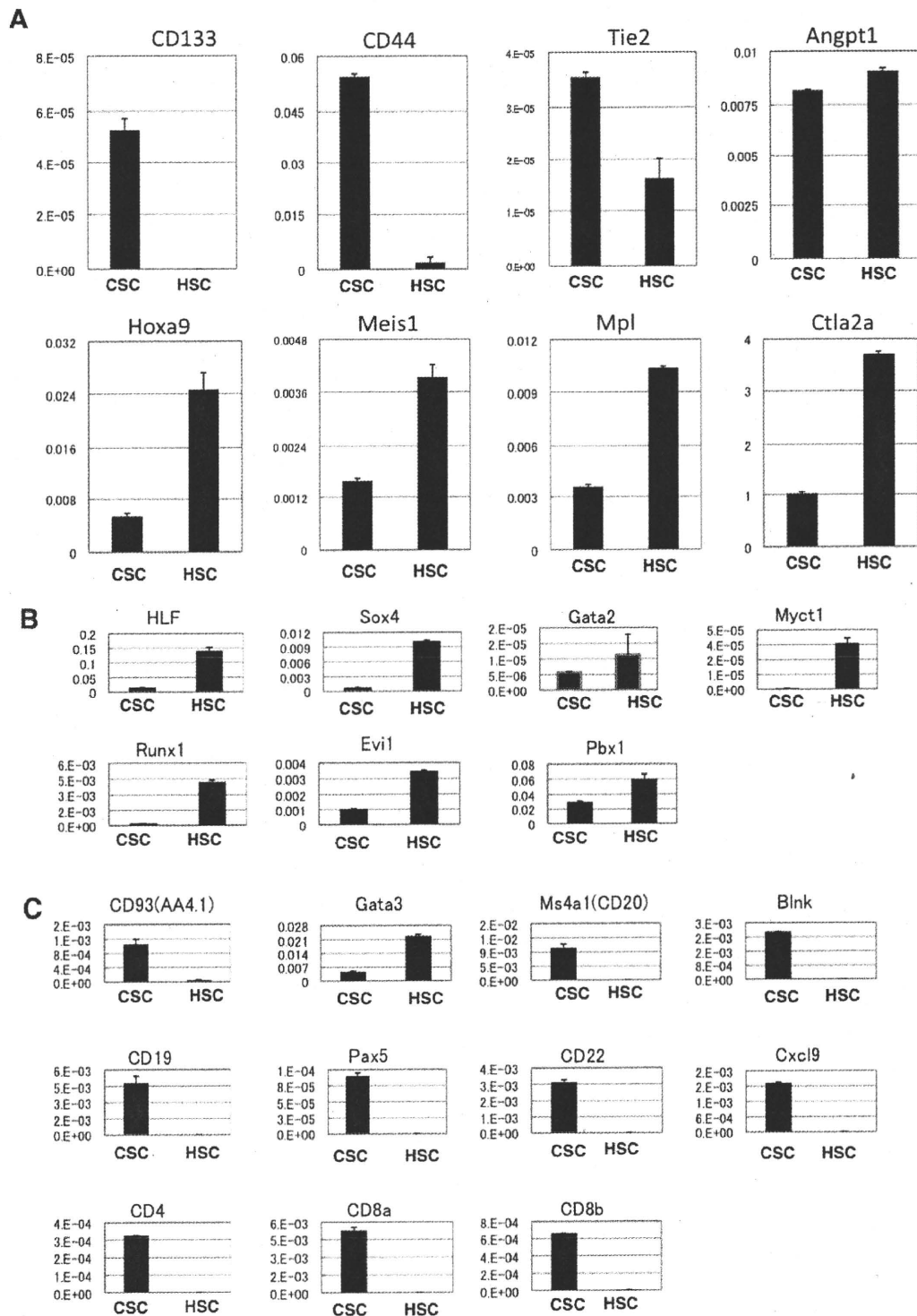


図 3 : CSC と HSC との発現遺伝子の比較。ATL 様がん幹細胞 (CSC) と造血幹細胞 (HSC) との発現遺伝子比較。A : HSC において発現していることが報告されている遺伝子。B : Myeloid 系細胞において発現していることが報告されている遺伝子。C : CLP 及び Lymphoid 系細胞において発現していることが報告されている遺伝子。CSC が HSC よりも CLP に近い遺伝子発現をしている。

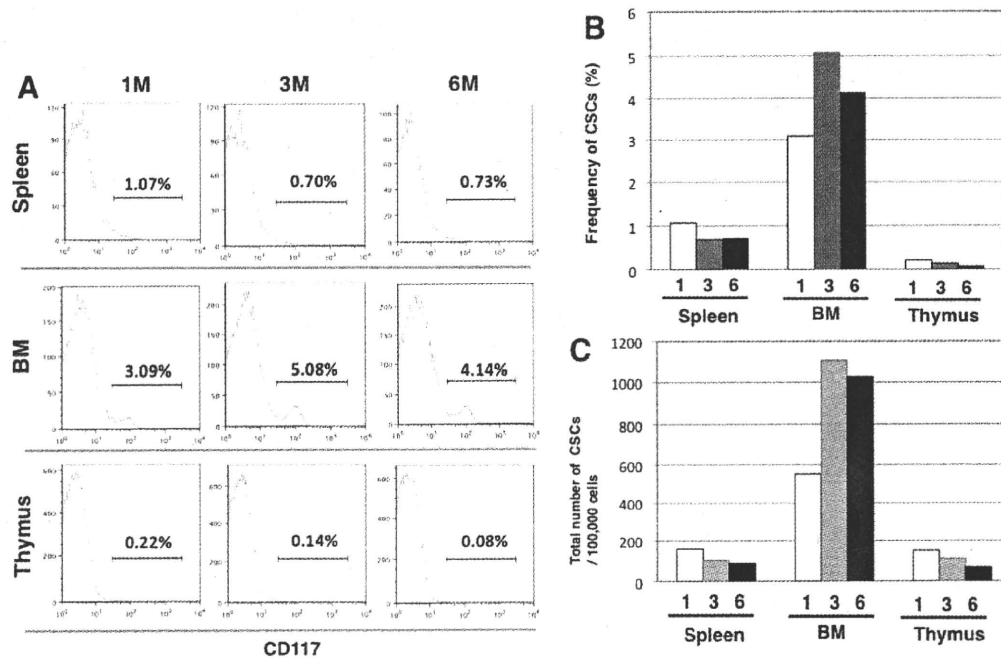


図4 : Tax-Tg マウスの各組織における CSC 分画解析。CSC が発生する時期と場所を同定するため、生後 1 ヶ月～6 ヶ月の Tax-Tg マウスから脾臓、骨髄、胸腺の細胞を採取し、CSC 分画に存在する細胞数を測定した。A : FACS による各組織細胞中の ATL 様がん幹細胞分画(CD38-, CD71-, CD117+)の解析。B : 各月齢、組織中の CSC の出現頻度。C : 各月齢、組織中の CSC の実細胞数 (総細胞 10 万個当たり)。成長に従い、骨髄中の CSC 分画の細胞が増加していることが分かる。

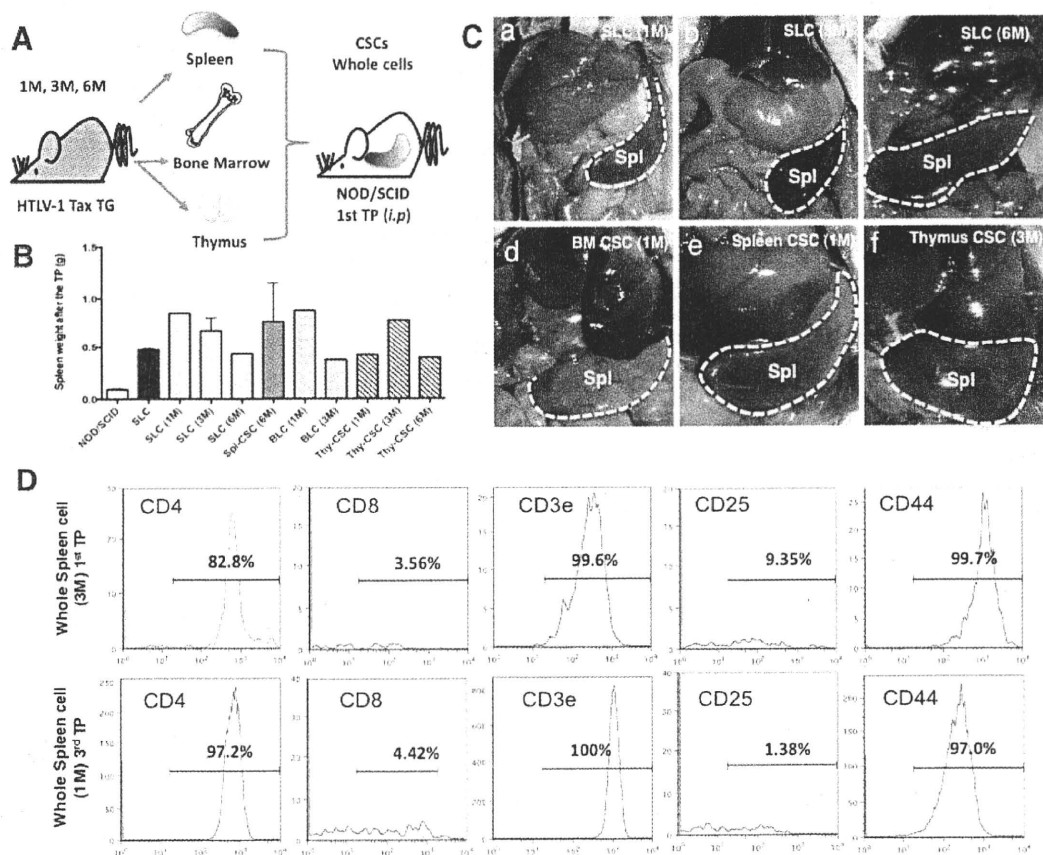


図 5 : NOD/SCID マウスへの移植による CSC の腫瘍形成能力の評価。CSC 分画に存在する細胞の腫瘍再形成能力を評価するため、NOD/SCID マウスへの移植実験を行った。A : 移植実験の概要。生後 1 ヶ月～6 ヶ月の Tax-Tg マウスの脾臓、骨髄、胸腺の細胞を NOD/SCID マウスの腹腔内に移植した。各月齢、組織の CSC 分画細胞を 1000 個ずつ、また比較のため脾臓の全細胞を 1×10^7 個ずつ移植した。B : 各種細胞接種後のマウスの脾臓重量。NOD/SCID : 正常な NOD/SCID マウスの脾臓重量 ; SLC : Tax-Tg に自然発症した SLC を移植したマウスでの脾臓重量 ; SLC (month) : 各月齢の全脾臓細胞を移植したもの ; Spl-CSC (month) : 各月齢の脾臓中の CSC を移植したもの ; BLC (month) : 各月齢の骨髄中の CSC を移植したもの ; Thy-CSC (month) : 各月齢の胸腺中の CSC を移植したもの。C : 各細胞移植により発症した巨脾像。a : 全脾臓細胞 (1 ヶ月) b : 全脾臓細胞 (3 ヶ月) c : 全脾臓細胞 (6 ヶ月) d : 骨髄 CSC 細胞 (1 ヶ月) e : 脾臓 CSC 細胞 (1 ヶ月) f : 胸腺 CSC 細胞 (3 ヶ月)。D : FACS による発症した脾腫細胞の表現型解析。上段 : 全脾臓細胞 (3 ヶ月)、下段 : 全脾臓細胞 (1 ヶ月)。

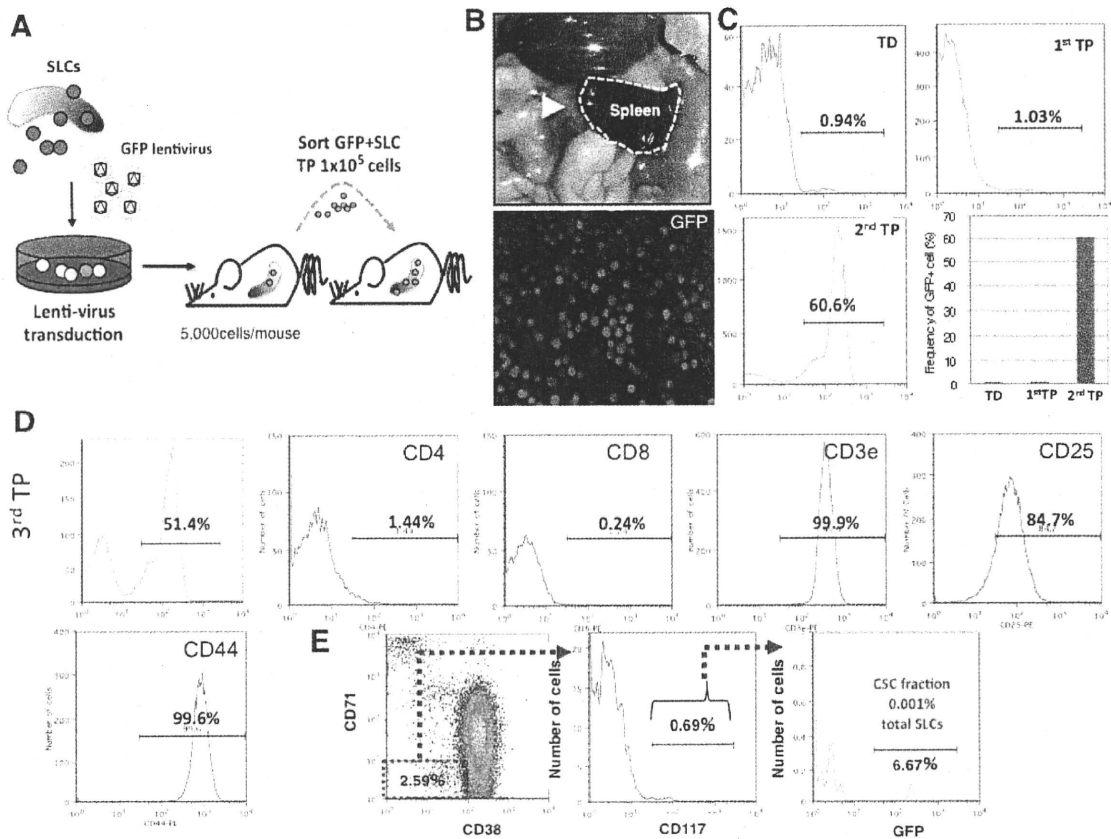


図6：レンチウイルスベクターを用いた腫瘍細胞への GFP 導入。A：レンチウイルスベクターを用いて SLC へ GFP を導入し、NOD/SCID マウスへの連続移植実験により GFP 細胞を濃縮した。B：移植により発症した脾腫像（上段：明視野、下段：GFP）。C：GFP 陽性細胞率の変化。TD：ウイルス感染後、1stTP：初回移植後の脾臓中、2ndTP：2次移植後の脾臓中。D：FACS による GFP 陽性脾腫細胞の表現型解析。E：脾腫細胞中の CSC 分画細胞の GFP 陽性率。連続移植により組織内の GFP 陽性細胞率は増加していくが、腫瘍細胞の表現型に変化は認められない。

質量分析計を用いたマウス ATL 幹細胞特異的分子の同定

分担研究者：長谷川秀樹（国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター）

研究協力者：鈴木忠樹（国立感染症研究所 感染病理部）

梁 明秀（横浜市立大学医学部 微生物学・分子生体防御学）

岡山明子（横浜市立大学先端医科学研究センター）

平野 久（横浜市立大学先端医科学研究センター）

研究要旨

HTLV-1 感染により引き起こされる成人 T 細胞白血病 (ATL) のモデルマウスである Tax トランスジェニックマウスで起こる白血病の腫瘍細胞 (mATL 細胞) にはがん幹細胞が存在する。がん幹細胞を標的とした新規 ATL 治療法の基礎を確立するため、マウスモデルの mATL がん幹細胞に特異的に発現する治療標的候補分子の同定を質量分析計による定量的解析法を用いて試みた。その結果、mATL がん幹細胞に高発現している細胞接着膜タンパク質を同定することに成功した。今後、この分子とがん幹細胞の関係性を詳細に明らかにする事により、この分子が Tax により誘導される白血病に対するがん幹細胞特異的治療法の標的分子の候補となると考えられた。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病 (ATL) は、HTLV-1 の感染後数十年を経て発症する極めて悪性度の高い末梢性 T 細胞腫瘍である。我々は、HTLV-1 の tax 遺伝子を lck 近位プロモーター下に発現させるトランスジェニックマウスを作成し、このマウスでは ATL と同様の白血病を発症することを報告している (Hasegawa et al., Nat Med. 2006;12(4):466-72)。

この細胞を免疫不全マウス (SCID マウス) へ移植すると、SCID マウスは 1 ヶ月程度で白血病を発症する。この腫瘍細胞移植実験

系は短期間で腫瘍形成能を評価する事ができ、治療効果判定の実験に有用である。我々はこの実験系を用いて CXCR4 阻害剤や NF- κ B 阻害剤の治療効果を見当してきたが、いずれの薬剤も in vitro においては効果的であるものも in vivo の実験であるマウスへの移植実験での効果は限定的であり、白血病の発症を完全には抑制できない事が明らかになった。これら結果より tax により誘導される白血病細胞の中には腫瘍細胞の Major population とは異なる細胞表面マーカーを持ち、薬剤に耐性のある Minor

population が存在し、その集団が腫瘍の拡大に寄与しているのではないかという仮説が考えられた。

最近、この白血病細胞中に癌幹細胞(CSC)が存在していることが報告され、新たな治療標的として有望視されている。癌幹細胞を標的とした治療法を開発するためには、正常の細胞、幹細胞に極力影響を与えないような癌幹細胞特異的な機構を標的とすることが重要でありことから、我々は癌幹細胞で特異的に発現している分子を同定するために白血病細胞の中から癌幹細胞を集め質量分析計による定量解析を行った。

B. 研究方法

1) 材料 (細胞)

Tax トランスジェニックマウス由来の白血病/リンパ腫細胞 1×10^6 個を RPMI に懸濁し、SCID マウスの腹腔内に接種し、約 28 日後マウスが白血病を発症した時点で腹水及び脾臓を回収した。再びこれを SCID マウスに腹腔内接種で継代し、これを繰り返す事で腫瘍細胞のみの集団にした。更に Percoll を用いて腫瘍細胞を分離し、この集団を mouse ATL leukemic cell(mATL 細胞)として実験に用いた。mATL 細胞のがん幹細胞の分取は、Yamazaki らの論文 (Blood 2009 Sep 24;114(13):2709-20.) に準じて以下のように行った。まず SCID マウスの脾臓から mATL 細胞を分離し、次に細胞を抗 CD16/32 抗体および抗 CD38-PE 抗体、続いて抗 PE マイクロビーズと反応させ MACS カラムで CD38 陰性分画を濃縮した。CD38 陰性細胞

を抗 CD71-FITC 抗体、抗 CD117-APC 抗体で染色し、JSAN セルソーターにて CD38 陰性、CD71 陰性、CD117 陽性分画の細胞を集めた。非がん幹細胞集団として、CD38 陽性、CD71 陽性、CD117 陰性も同時に集めた。集めた細胞はセルバンカーに浮遊させ、-80 で保存した。この実験は国立感染症研究所の実験動物委員会の承認のもとに実施した。

2) 質量分析計による定量解析

がん幹細胞(3.6×10^5 cells)、非がん幹細胞(1×10^6 cells)を 1ml PBS で 3 回洗浄後、100 μ l の 10% TCA を加えて氷上でインキュベートした。細胞質画分の溶出のために 20 μ l の Lysis buffer (4 M urea, 2 M Thiourea, protease and proteasome inhibitor)を加えて sonication (UCD250 にて 5 分間 (30 sec,30 sec interval)) を行った。終濃度 10 mM DTT を加え 30 分間、室温にて振盪した。次に終濃度 10 mM ヨードアセトアミドを加え 30 分間、室温にて振盪した。得られた lysate を Quant-iT protein Assay Kit(invitrogen)を用いてタンパク質量の定量を行った。液量を 25 μ l に揃え、Lys-C を 1 μ g/100 μ l に調整し、サンプルに 1 μ l ずつ添加した。37 にて 3 時間インキュベートし、500 mM の TEAB (iTRAQ 試薬に付属のもの) を 75 μ l 加え、ウレアの終濃度を 1 M にし、PH 試験紙で PH 8~9 にある事を確認した。トリプシンを各サンプルに 1.25 μ g ずつ添加し、37 にて 12 時間インキュベートした。10 μ l 30% TFA を加え、トリプシンの反応を止めた。C18 (逆相交換体) STAGE Tip (5) で精製し、精製物を 2%ACN/0.1%TFA 溶解タンパクとして 1 μ g

分のペプチドを質量分析計 Thermo SCIENTIFIC 社 LTQ Orbitrap Velos へアプライした。続いて、以下のように膜分画のタンパク質を溶出し再解析を行った。細胞に 20 μ l Lysis buffer(4 M urea, 2 M Thiourea, 4% デオキシコール酸ナトリウム, protease and proteasome inhibitor) を加えて Grinding Kit(GE healthcare)のビーズでホモジナイズし、遠心後上清を回収した。遠心後のペレットに 20 μ l Lysis buffer を加え、sonication (UCD250 にて 5min (30 sec, 30 sec interval)) を行った。上清とペレットと混ぜ合わせ、終濃度 10mM DTT を加え 30 分間、室温にて振盪した。次に終濃度 10 mM ヨードアセトアミドを加え 30 分間、室温にて振盪した。得られた lysate を Quant-iT protein Assay Kit(invitrogen)を用いてタンパク質量の定量を行った。液量を 25 μ l に揃え、Lys-C を 1 μ g/100 μ l に調整し、サンプルに 10 μ l ずつ添加した。37 にて 3 時間インキュベートし、500 mM の TEAB (iTRAQ 試薬に付属のもの) を 150 μ l 加え、ウレアの終濃度を 1 M にし、PH 試験紙で PH 8~9 にある事を確認した。トリプシンを各サンプルに 2 μ g ずつ添加し、37 にて 16 時間インキュベートした。8 μ l 30% TFA を加え、トリプシンの反応を止めた。200 μ l の酢酸エチルを加え、遠心後、上清を廃棄し、スピードバックにてペレットを乾燥させた。C18 (逆相交換体) STAGE Tip (5) で精製し、精製物を 2%ACN/0.1%TFA 溶解タンパクとして 1.6 μ g 分のペプチドを質量分析計 Thermo SCIENTIFIC 社 LTQ Orbitrap Velos へアプ

ライした。解析結果は Thermo SCIENTIFIC 社 Proteome Discoverer 検索にてペプチドを同定し、Progenesisにより定量解析を行った。

3) フローサイトメトリー

SICD マウスの脾臓から分離した mATL 細胞 (1×10^8 cells) 1,500 rpm, 3 min, 4 で遠心し、2 ml の 2% fetal bovine serum (FBS) 含有 phosphate buffered saline (PBS) で洗浄後、1,500 rpm, 3 分, 4 で遠心し、100 μ l の 2% FBS 含有 PBS に懸濁した。抗 CD16/32 抗体および抗 CD38-PE 抗体を添加、混和し、30 分間、4、暗所で反応させた。その後 2 ml の 2% FBS 含有 PBS で洗浄した。続いて抗 PE マイクロビーズと反応させ MACS カラム CD38 陰性分画を濃縮した。得られた CD38 陰性細胞 (1×10^7 cells) に抗 CD71-FITC 抗体、抗 CD117-APC 抗体を添加、混和し、30 分間、4、暗所で反応させた。MACS 処理前の CD38 陽性細胞を含む集団 (1×10^7 cells) も同時に抗 CD71-FITC 抗体、抗 CD117-APC 抗体で処理した。処理した細胞はフローサイトメトリー (FACS CantoII) および Flow jo をも用いて解析した。

C. 研究結果

1) mATL がん幹細胞のソーティング

2×10^6 cells の mATL 細胞を腹腔内投与し、1 ヶ月経過した SCID マウスの脾臓から 1.5×10^9 cells の mATL 細胞を分離した。MACS を用いて CD38 陰性細胞を濃縮した所、 1.2×10^8 cells の細胞が得られた。得られた細胞を全て使いソーティングした結果、 3.6×10^5 cells の CD38(-), CD71(-), CD117(+)

mATL 細胞を得る事ができた。

2) 質量分析計による定量解析

細胞質画分の解析では、がん幹細胞では 86 個のペプチド、非がん幹細胞では 208 個のペプチドが同定され (図 1)、Progenesis で定量解析した結果、236 個のタンパク質の比較定量解析を行う事ができた。膜画分の解析では、がん幹細胞では 197 個のペプチド、非がん幹細胞では 533 個のペプチドが同定され (図 1)、Progenesis で定量解析した結果、517 個のタンパク質の比較定量解析を行う事ができた。以上の解析から、がん幹細胞で発現の高い分子の候補として表 1 のようなタンパク質が同定された。

3) フローサイトメトリーによる発現確認

がん幹細胞で高発現している候補分子の中からがん幹細胞の表面マーカーになりうる分子を探すために膜タンパク質を選択した所、細胞接着に関わる膜タンパク質 (Cell adhesion membrane protein) が同定された。同分子の特異的抗体を用いてフローサイトメトリーにより細胞表面での発現を解析した所、がん幹細胞の分画で発現が高い事が分かった (図 2)。

D. 考察

近年、さまざまな固形腫瘍、血液腫瘍において「腫瘍内において自己複製能と腫瘍を構成するさまざまな分化系統の癌細胞を生み出す能力をあわせもつ細胞」と定義されるがん幹細胞 (Cancer Stem Cell; CSC) の存在が報告されている。このがん幹細胞の本

態の解明・治療抵抗性の克服は「がん」に対する治療を飛躍的に改善する可能性を秘めており、がん幹細胞を標的とする研究は世界中で盛んに行われている。がん根治を目指すがん幹細胞を標的とした治療法は、がん幹細胞の自己複製に必要な分子を阻害する、がん幹細胞特異的に発現する細胞表面抗原に対する抗体医薬により癌幹細胞を免疫学的に除去する、化学療法に抵抗性であったがん幹細胞の感受性を上げる、などの方法での開発が行われている。これらの方法の要となるのはいずれも正常の細胞、幹細胞に極力影響を与えないようながん幹細胞特異的な分子/機構を同定することである。

がん幹細胞は実験的に持続的に拡大する腫瘍の形成を繰り返す能力を示す事により定義され、免疫不全マウスへの移植実験が現在最も信頼性の高いがん幹細胞の評価方法とされている。現在までにマウス ATL モデルの白血病細胞は免疫不全マウスに繰り返し移植する事ができ、この白血病細胞中に高い腫瘍再構築能を持った癌幹細胞 (CSC) が存在しており、mATL 細胞のがん幹細胞は CD38(-), CD71(-), CD117(+) という特徴を持っている事が明らかになっている。そこで、我々は質量分析計を用いた定量解析により mATL 細胞の中から CD38(-), CD71(-), CD117(+) という特徴を持つ細胞集団を集めがん幹細胞に特異的に発現している分子、特に細胞表面に存在する分子の同定を試みた。一般的に質量分析計で解析するためには多量のタンパク質を用意する必

要があり、さらにサンプル間の比較定量解析では同位体ラベルの必要性から一回の解析に 100 μg 以上のタンパク質量が必要とされている。今回のがん幹細胞のように十分な量を得る事ができないサンプルの発現解析はフローサイトメトリーか mRNA の定量という方法しかなかった。フローサイトメトリーはタンパク質の発現量を抗体により直接的に評価できるが、網羅的な解析は難しい。また mRNA の解析はマイクロアレイという非常に網羅的な解析に適したシステムがあるが、タンパク質自身の量を評価している訳ではなく、発現量の変化があるタンパク質分子を同定するという目的においては偽陽性、偽陰性の問題が生じる。今回は、従来の iTRAC 法等のラベル法を用いず、マスマスペクトルから得られたペプチドプロファイルの比較を特殊なアルゴリズムにより可能にした Progenesis を用いて定量解析を行った。この方法では 1 μg 程度のサンプル量で解析が行える事から、今回のようなサンプルの解析に適している。この定量解析により、mATL のがん幹細胞では非がん幹細胞に比べ細胞接着に関わるある分子の発現が高い事が明らかになり、この発現は、フローサイトメトリーでも確認された。今後、この分子と癌幹細胞の関係性を詳細に明らかにしていくことにより、この分子が Tax により誘導される白血病に対するがん幹細胞特異的治療法の標的分子の候補となると考えられた。

E. 結論

セルソーティングと質量分析計を用いた定量解析により mATL ががん幹細胞に高発現している細胞接着膜タンパク質を同定することに成功した。

F. 研究発表

1. 論文発表

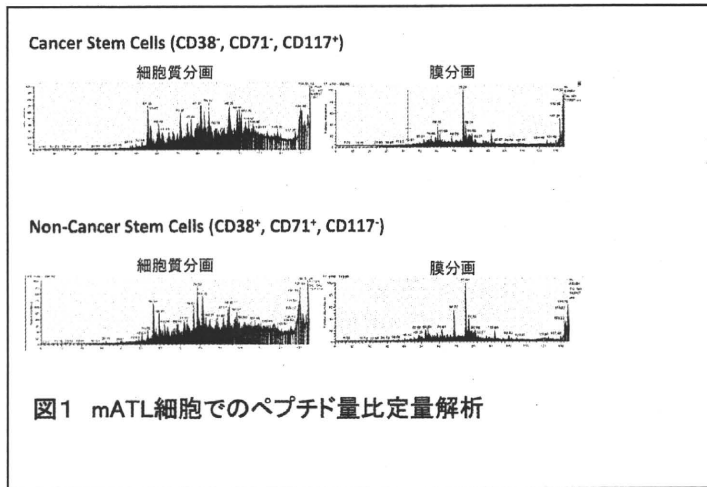
- 1) Watters KM, Dean J, Hasegawa H, Sawa H, Hall W, Sheehy N Cytokine and growth factor expression by HTLV-1 Lck-tax transgenic cells in SCID mice. **AIDS Res Hum Retroviruses.** 2010 May;26(5):593-603.
- 2) El Hajj H, El-Sabban M, Hasegawa H, Zaatari G, Ablain J, Saab ST, Janin A, Mahfouz R, Nasr R, Kfoury Y, Nicot C, Hermine O, Hall W, de Thé H, Bazarbachi A. Therapy-induced selective loss of leukemia-initiating activity in murine adult T cell leukemia. **J Exp Med.** 2010 Dec 20;207(13):2785-92.

2. 学会発表

- 1) 池辺詠美、川口晶、田口慎也、川嶋太郎、田中勇悦、堀光雄、澤洋文、西園晃、長谷川秀樹、伊波英克 分子シャペロン阻害剤による Tax と Tax 結合蛋白質の機能相関性に対する抑制的影響 第 58 回日本ウイルス学会学術集会 2010 年 11 月徳島

G. 知的財産権の出願、登録状況

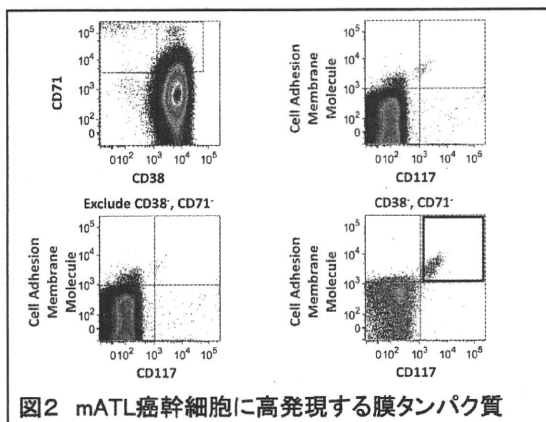
なし



53 proteins: CSC/Non-CSC > 2.0

| Protein | Ratio CSC/Non-CSC |
|---|-------------------|
| Alpha-internexin | 2.13 |
| TMED1 | 2.18 |
| Rab8b | 2.43 |
| Rab3c | 2.47 |
| Tubb1 | 2.51 |
| RapGEF1 | 3.26 |
| Tpm1 | 3.71 |
| Gelsolin | 3.90 |
| Vitamin D-binding protein | 4.38 |
| Phospholipase D4 | 7.08 |
| Cell adhesion membrane proein | 9.28 |
| Integrin-linked protein kinase | 10.85 |
| Amyloid beta A4 precursor protein-binding family A member 3 | 13.94 |

表1 mATL癌細胞特異的に発現する分子



ATLにおけるゲノム異常の解析

分担研究者：小川誠司 東京大学医学部附属病院がんゲノミクスプロジェクト特任准教授

研究要旨

ATLはHTLV-1感染不死化T細胞に遺伝子変異が蓄積した結果発症すると考えられている。本分担研究においては、キャリアの感染細胞中の腫瘍化T細胞あるいはATL幹細胞の早期検出、また分子治療法の開発のための基盤構築をめざし、ゲノムの視点からこれらの細胞の特性解析を行う。本年度は、これまでにATL検体を用いた研究でゲノム異常の集積がみられたTCR経路に着目し、同経路が感染細胞の腫瘍化に重要な役割を果たしているという仮説のもと機能解析を開始した。そのほかに同経路に含まれる遺伝子の変異解析を行い、新規の変異を1例確認した。

A. 研究目的

成人T細胞白血病(ATL)はHTLV-1のキャリアに発症する末梢性T細胞腫瘍である。有効な治療法や発症予防法は現時点で知られておらず予後は極めて不良である。日本では推定120万人のキャリアから今後5-10万人のATL新規発症が予測されており、本疾患に対する画期的な治療法及び発症予防技術の開発を行うことは極めて重要かつ緊急の課題である。

本分担研究は、ATLの早期診断・画期的根治療法開発のための基盤構築に向けて、ATL患者中の腫瘍細胞及びがん幹細胞特性を有する細胞群(ATL-CSCs)について、マイクロアレイならびに高速シーケンス技術を用いたゲノム解析を行い、特性を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

本分担研究では、ATL患者中の腫瘍細胞ならびにがん幹細胞(ATL-CSCs)について最先端のゲノム解析法を用いた実験を行う。既に実施された170例のATL患者検体のSNPアレイによるゲノムコピー数解析から、多数の異常集積領域が同定されている。中でもTCRシグナル経路に関与する遺伝子において、シグナル経路の上流である細胞膜表面のレセプター、シグナル伝達、遺伝子発現制御を行う遺伝子を含む、9遺伝子でゲノムコピー数の異常(高度増幅、増加、欠

失)の集積が確認されており、T細胞腫瘍であるATLの腫瘍化において、TCRシグナル経路が重要な役割を果たしていることが示唆される。

そこで本年度は、(1)TCRシグナル経路が感染細胞の腫瘍化に重要な役割をもつという仮説に基づき、同経路の重要性を機能的な側面から検討するために、ATL細胞株においてTCRシグナル経路を抑制する系の構築を開始した。TCRシグナルの抑制にはTCR経路に関係する複数の遺伝子に対するshRNAを用いる。導入にはレンチウイルスないしレトロウイルスを用い、効率的なノックダウンを目指す。これまでに4遺伝子に対し各々複数のshRNA発現ベクターが完成しており、現在ウイルスを用いた導入実験を行っている。(2)平成21年度までにTCRシグナルに関与する主要な標的候補である細胞膜表面レセプターについて変異解析を行ったが、コピー数異常以外に腫瘍特異的な変異は検出されていない。本年度は新たに、コピー数解析で170例中3例にゲノム異常(欠失)が確認された遺伝子について、遺伝子変異解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は東京大学の倫理委員会の承認を得ている。本分担研究で用いた検体はインフォームドコンセントを得た後に連結可能匿名化を施して検討に用いた。

C. 研究結果

(1) TCR シグナル経路を抑制する系の構築については、4 遺伝子の shRNA 発現ベクターを構築した。効率の良いノックダウンの実現に向けて遺伝子導入を検討中である。

(2) TCRシグナル経路の制御に関与する1遺伝子の活性化部位に対して、ATL 検体を用いた変異解析を行った結果、1 症例において片アレルの欠失が確認された。

D. 考察

TCR に関与する分子の中には、膜表面のレセプターなど大幅に発現が増加している分子があり、効率的なノックダウンを行う方法を検討する必要があると考えられた。TCR 経路に関わる分子のうち、ゲノムのコピー数異常が認められない遺伝子にも点変異等の集積が存在する可能性が考えられる。同経路に関与する分子の変異解析を網羅的に行い、同経路に異常をもつ症例の頻度を検討する必要があると考えられた。

E. 結論

ATL 患者検体を用いたゲノムコピー数解析から TCR 経路への異常の集積が確認され、ATL における同経路の重要性が示唆された。そこで本年度は ATL 細胞株での TCR 経路抑制の系を用いた機能的実験を開始し、実験系の構築に向けた検討を行っている。このほか、同経路に抑制的に関与する 1 遺伝子の変異解析を行った。その結果、マイクロアレイによるコピー数解析で既に確認されているゲノム異常以外に、新規の変異が確認された。次年度以降は、TCR 経路について機能的実験を進めるとともに、ATL 細胞及び ATL-CSC 分画について、次世代シーケンサーを用いた網羅的変異解析を行う予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

- 1) Asanuma S, Nakano K, Yamagishi M, Ogawa S, Yamaguchi K, Utsunomiya A, Watanabe T, “Over-expression of dominant-negative Helios

isoforms in adult T-cell leukemia (ATL) cells”, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2010 年 12 月 9 日 (2010 年 12 月 7 日～10 日)

- 2) Yamochi T, Morita Y, Yamochi T, Sasaki Y, Watanabe N, Ogawa S, Utsunomiya A, Hamaguchi I, Uchimar K, Nakauchi H, Watanabe T, “Search for cancer stem cells in ATL”, 第 72 回日本血液学会学術集会、横浜、2010 年 9 月 25 日 (2010 年 9 月 24 日～26 日)

- 3) Matsubara A, Kato M, Sanada M, Takita J, Chiba S, Hayashi Y, Kobayashi Y, Watanabe T, Yoshino T, Koeffler H, Bartram C, Ogawa S, “Genome-wide analysis using high-density SNP microarrays in various types of hematologic malignancies”, 第 72 回日本血液学会学術集会、横浜、2010 年 9 月 26 日 (2010 年 9 月 24 日～26 日)

- 4) 浅沼里実、中野和民、山岸誠、小川誠司、山口一成、宇都宮與、渡邊俊樹、「成人 T 細胞白血病に置ける Helios のドミナントネガティブ型アイソフォームの過剰発現」、第 69 回日本癌学会学術総会、大阪、2010 年 9 月 22 日 (2010 年 9 月 22 日～24 日)

- 5) 矢持忠徳、守田洋平、矢持淑子、佐々木陽介、小川誠司、宇都宮與、渡辺信和、浜口功、内丸薫、中内啓光、渡邊俊樹、「成人 T 細胞性白血病におけるがん幹細胞の同定への試み」、第 69 回日本癌学会学術総会、大阪、2010 年 9 月 22 日 (2010 年 9 月 22 日～24 日)

- 6) 矢持忠徳、守田洋平、矢持淑子、佐々木陽介、中内啓光、内丸 薫、小川誠司、渡邊俊樹、「成人 T 細胞性白血病における Tumor Initiating Cell の探索の試み」、第 50 回日本リンパ網内系学会総会、新潟、2010 年 6 月 19 日 (2010 年 6 月 18 日～19 日)

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

ATL の臨床・分子病態と新規治療法開発の研究

分担研究者：塚崎邦弘 長崎大学医歯薬学総合研究科 准教授

研究要旨

ATL のがん幹細胞と臨床病態との関連を明らかにするために、JSPFAD への患者および HTLV-1 キャリア検体のバンキングを継続した。

急性転化するまでは watchful waiting が標準治療とされてきた indolent ATL の多数例で長期予後を解析したところ、全身抗がん剤療法の開始時期はほぼ均一で急性転化した時期に一致しており、その後の予後は不良であった。

ポリコーム遺伝子の EZH2 は ATL 細胞の増殖に重要であり、EZH2 を標的としたヒストンメチル化阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用によるエピジェネティック療法は本疾患の治療法として有望である。このような分子標的療法は、現在 aggressive ATL に対する標準治療とされる同種造血幹細胞移植療法や多剤抗がん剤併用療法と比べて毒性が低いとされており、臨床開発が期待される。高齢者に多く多段階発がんによる ATL に対する新規治療法の開発は、今後、indolent ATL の時期からの検討が望まれる。

今年度から始まった HTLV-1 総合対策の一環として、HTLV-1/ATL について医療機関の調査とパンフレット作成を行った。今後、他の HTLV-1 関連疾患についての研究班とも共同して、継続的に本疾患の総合対策に寄与することは重要である。

A. 研究目的

ATL のがん幹細胞の特性に着目しつつ、多様な臨床病態をとる本疾患の分子病態に基づいて、候補となる新規治療法を見出すことを目的とする。

B. 研究方法

1) JSPFAD バンキング

ATL 患者および HTLV-1 キャリアの全国コホート研究/バイオマテリアルバンク (JSPFAD) に長崎県内の関連病院とともに参加し、バンキングを行った。

2) indolent ATL の長期予後と関連する臨床・分子病態

急性転化（急性型またはリンパ腫型の aggressive ATL になること）するまでは watchful waiting（無治療または対症療法のみで観察）が標準治療とされてきた慢性型とくすぶり型の indolent ATL の長期予後はこれまで不明であったので、1974 年から 2003 年に当科で診断された indolent ATL 90 例を解析した。病型分類は、Japan Clinical Oncology Group (JCOG) リンパ腫班による規準によった。特に今後の臨床試験への登録症例の規準の参考とするため、全身化学療法を開始に至るときの病状を解析した。

3) ポリコーム (PC) 遺伝子 EZH2 による ATL 細胞増殖を標的としたヒストンメチル化阻害剤 DZNep とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 LBH586 によるエピジェネティック療法

PC 遺伝子の 1 つである Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) は、polycomb repressive complex 2 (PRC2) を構成しヒストン H3 のリジン 27 をトリメチル化することにより、エピジェネティックな遺伝子発現抑制とクロマチンのリモデリングに関与する。ヒストンメチル化阻害剤の DZNep とヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤の LBH586 は、EZH2 ほかに抑制し、種々のがん細胞の増殖停止と分化による抗がん剤として期待されている。EZH2 について ATL 細胞株とプライマリー ATL 細胞を用いて検討した。

4) HTLV-1 キャリアおよび ATL 患者と家族に対する相談機能の整備

今年度なかばに国の HTLV-1 総合対策が示されたことを受けた標記の追加課題によって、全国の医療機関への診療実態調査と患者・家族向けのパンフレット作成を行った。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言およびヒトゲノム・遺伝子解析研究、疫学研究、臨床試験に関するわが国の倫理指針に従って研究を実施した。

C. 研究結果

1) JSPFAD バンキング

収集した検体は細胞と血漿に分離され、ATL のがん幹細胞と臨床病態との関連を明らかにする研究に用いられるまで冷凍バンキングさ

れた。

2) indolent ATL の長期予後と臨床・分子病態

indolent ATL 90 例 (慢性型 65 例、くすぶり型 25 例) の生存期間中央値は 4.1 年であった。推定 10 年生存割合は 25% であり、生存曲線にプラトーは認めなかった。

くすぶり型・慢性型 ATL から全身化学療法に移行した 44 例中、急性型または予後不良因子を持つ慢性型へ移行していなかったのは、リンパ節病変の悪化と皮膚膿瘍を認めた慢性型の 1 例のみであった。くすぶり型は全例で、リンパ節病変の出現を伴って急性転化していた。全身療法開始後の予後は、極めて不良であった。

3) ポリコーム (PC) 遺伝子 EZH2 による ATL 細胞増殖に対するヒストンメチル化阻害剤 DZNep とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 LBH586 によるエピジェネティック療法

CD4 磁気ビーズで純化したプライマリー ATL 細胞を用いた発現アレイ解析では、EZH2 に加えて同じく PC 遺伝子の RING2 と YY1 の発現が亢進していたが、EZH2 の高発現は予後不良因子であった。ATL 細胞株におけるヒストン H3 のトリメチル化を伴う EZH2 高発現は、miR-101 と miR-128a の発現と関連していた。さらにヒストンメチル化阻害剤 DZNep とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 LBH586 は、ATL 細胞株に対して相乗的に殺細胞効果を認めた。

4) HTLV-1 キャリアおよび ATL 患者と家族に対する相談機能の整備

全国の 1310 の医療機関へ ATL/HTLV-1 の診

療実態調査を行った。そのうち血液内科 216 施設と皮膚科 242 施設の診療内容を集計し、今年度中に公開予定のホームページ (HTLV-1 情報サービス) に掲載を予定している。

ATL 患者・家族の方々が疾患をよりよく理解し、医療機関で診療を適切に受けることができるように、パンフレットを作成した。

D. 考察

本研究では、ATL のがん幹細胞の特性に着目しつつ、多様な臨床病態をとる本疾患の分子病態に基づいて、候補となる新規治療法を見出すことを目的とし JSPFAD バンキングを継続した。

HTLV-1 キャリアのうち毎年数千人に 1 人が ATL を発症すると考えられるが、我が国に 100 万人以上現存する HTLV-1 キャリアの高齢化に伴い、新規 ATL 患者は増加している。今回の Indolent ATL 多数例の長期フォロー解析では、急性転化するまでは watchful waiting が標準治療とされてきた本病型の長期予後は不良であった。その抗がん剤による治療は、多くは急性型への ATL の病状悪化の時期に開始されていた。aggressive ATL に対する標準治療とされる同種造血幹細胞移植療法や多剤抗がん剤併用療法は、毒性が高いことから indolent ATL に対する治療法としては推奨されていない。本病型に対しては、欧米では ATL の標準治療の 1 つとして汎用されていて比較的毒性が低いインターフェロン α とジドブジンの併用療法、さらにはより毒性が低いとされる分子標的療法の臨床開発が期待される。今回の indolent ATL の解析で予後因子であった節外病変としては、皮膚病変が最多であった。indolent ATL の中から皮膚型 ATL を独立させることも提唱されており、層別化治療の観点からも分子病態を含めて今後の検討課題である。

プライマリーATL 細胞と ATL 細胞株を用いた解析により、PC 遺伝子の EZH2 の高発現が ATL の増殖に重要であることが明らかとなった。さらには EZH2 を標的としたヒストンメチル化阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用によるエピジェネティック療法が、本疾患の治療法として有望であることが示された。

今年度の追加課題によって、HTLV-1 キャリアおよび ATL 患者と家族に対する相談機能を整備するために、医療機関の調査とパンフレット作成を行った。今後、他の HTLV-1 関連疾患についての研究班とも共同し、継続的な HTLV-1 の総合対策に寄与することは重要である。

E. 結論

ATL のがん幹細胞と臨床病態との関連を明らかにするために JSPFAD バンキングを継続した。

急性転化するまでは watchful waiting が標準治療とされてきた indolent ATL に対する全身療法の開始時期はほぼ均一であり、その治療成績は不良であった。

ATL 細胞増殖にかかわる PC 遺伝子 EZH2 を標的とした併用エピジェネティック療法は、有望である。

HTLV-1/ATL について医療機関の調査とパンフレット作成を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

(英文雑誌)

- 1) Chou T, Tobinai K, Uike N, Asakawa T, Saito I, Fukuda H, Mizoroki F, Ando K, Iida S, Ueda R, Tsukasaki K, Hotta T; the Lymphoma Study

- Group (LSG) of Japan Clinical Oncology Group (JCOG), Japan. Melphalan-Prednisolone and Vincristine-Doxorubicin-Dexamethasone Chemotherapy followed by Prednisolone/Interferon Maintenance Therapy for Multiple Myeloma: Japan Clinical Oncology Group Study, JCOG0112. *Jpn J Clin Oncol.* 2011 Jan 19. [Epub ahead of print]
- 2) Hieshima K, Nagakubo D, Shigeta A, Tanaka Y, Hoshino H, Tsukasaki K, Yamada Y, Yoshie O. c-Maf suppresses human T-cell leukemia virus type 1 Tax by competing for CREB-binding protein. *Cancer Sci.* 2011 Jan 18. [Epub ahead of print]
 - 3) Hasegawa H, Yamada Y, Tsukasaki K, Mori N, Tsuruda K, Sasaki D, Usui T, Osaka A, Atogami S, Ishikawa C, Machijima Y, Sawada S, Hayashi T, Miyazaki Y, Kamihira S. LBH589, a deacetylase inhibitor, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via activation of a novel RAIDD-caspase-2 pathway. *Leukemia.* 2011 Jan 18. [Epub ahead of print]
 - 4) Sasaki D, Imaizumi Y, Hasegawa H, Osaka A, Tsukasaki K, Choi YL, Mano H, Marquez V, Hayashi T, Yanagihara K, Moriwaki Y, Miyazaki Y, Kamihira S, Yamada Y. Overexpression of enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy. *Haematologica.* 2011 Jan 12. [Epub ahead of print]
 - 5) Tobinai K, Ogura M, Itoh K, Kinoshita T, Hotta T, Watanabe T, Morishima Y, Igarashi T, Terauchi T, Ohashi Y; All Collaborators of the IDEC-C2B8 Study Group in Japan. Randomized phase II study of concurrent and sequential combinations of rituximab plus CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone) chemotherapy in untreated indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma: 7-year follow-up results. *Cancer Sci.* 2010 Dec;101(12):2579-85.
 - 6) Ishitsuka K, Fukushima T, Tsukasaki K, Tobinai K. Is Zidovudine and Interferon-Alfa the Gold Standard for Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma? *J Clin Oncol.* 2010 Oct 4. [Epub ahead of print].
 - 7) Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimaru K, Koh KR, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S, Yamaguchi K, for the Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development investigators. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. *Blood.* 116(8):1211-1219. 2010.
 - 8) Masuda M, Maruyama T, Ohta T, Ito A, Hayashi T, Tsukasaki K, Kamihira S, Yamaoka S, Hoshino H, Yoshida T, Watanabe T, Stanbridge EJ, Murakami Y. CADM1 interacts with Tiam1 and promotes invasive phenotype of human T-cell leukemia virus type I-transformed cells and adult T-cell leukemia cells. *J Biol Chem.*;285(20):15511-22. 2010.
 - 9) Sasaki D, Doi Y, Hasegawa H, Yanagihara K, Tsukasaki K, Iwanaga M, Yamada Y, Watanabe T, Kamihira S. High Human T Cell Leukemia

- Virus Type-1(HTLV-1) Provirus Load in Patients with HTLV-1 Carriers Complicated with HTLV-1-unrelated disorders. *Virology*. 2010 Apr 28;7(1):81. [Epub ahead of print].
- 10) Watanabe T, Kinoshita T, Itoh K, Yoshimura K, Ogura M, Kagami Y, Yamaguchi M, Kurosawa M, Tsukasaki K, Kasai M, Tobinai K, Kaba H, Mukai K, Nakamura S, Ohshima K, Hotta T, Shimoyama M. Pretreatment total serum protein is a significant prognostic factor for the outcome of patients with peripheral T/natural killer-cell lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 51(5):813-821. 2010.
- 11) Takasaki Y, Iwanaga M, Imaizumi Y, Tawara M, Joh T, Kohno T, Yamada Y, Kamihira S, Ikeda S, Miyazaki Y, Tomonaga M, Tsukasaki K. Long-term study of indolent adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL). *Blood* 115(22): 4337-4343. 2010.
- 12) Yanagihara K, Kitagawa Y, Tomonaga M, Tsukasaki K, Kohno S, Seki M, Sugimoto H, Shimazu T, Tasaki O, Matsushima A, Ikeda Y, Okamoto S, Aikawa N, Hori S, Obara H, Ishizaka A, Hasegawa N, Takeda J, Kamihira S, Sugahara K, Asari S, Murata M, Kobayashi Y, Ginba H, Sumiyama Y, Kitajima M.: Evaluation of pathogen detection from clinical samples by real-time polymerase chain reaction using a sepsis pathogen DNA detection kit. *Crit Care*. 14(4):R159,2010 [Epub 2010 Aug 24].
- 13) Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K, Tsukasaki K, Uike N, Uozumi K, Yamaguchi K, Yamada Y, Hanada S, Tamura K, Nakamura S, Inagaki H, Oshima K, Kiyoi H, Ishida T, Shitara K, Akinaga S, Ogura M, Tomonaga M, Ueda R. Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 28(9):1591-1598.2010.
- 14) Seki R, Ohshima K, Nagafuji K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H, Makino S, Eto T, Moriuchi Y, Taguchi F, Kamimura T, Tsuda H, Ogawa R, Shimoda K, Yamashita K, Suzuki K, Suzushima H, Tsukasaki K, Higuchi M, Utsunomiya A, Iwahashi M, Imamura Y, Tamura K, Suzumiya J, Yoshida M, Abe Y, Matsumoto T, Okamura T. Rituximab in combination with CHOP chemotherapy for the treatment of diffuse large B cell lymphoma in Japan: a retrospective analysis of 1,057 cases from Kyushu Lymphoma Study Group. *Int J Hematol*. 91(2):258-66, 2010.
- (和文雑誌)
- 1) 塚崎邦弘：[特集・難治性悪性リンパ腫の治療戦略] 5. 成人 T 細胞白血病・リンパ腫. *血液フロンティア* 20(2),187-195,2010
- 2) 塚崎邦弘：[特集 T/NK 細胞腫瘍研究の新展開]T 細胞腫瘍に対する新薬開発の現状. *血液・腫瘍科* 60(5)：608-613,2010
- 3) 塚崎邦弘：「特集 白血病の治療」成人 T 細胞白血病リンパ腫に対する薬物療法の進歩. *Medical Science Digest* 36(7):876-879,2010.
- 4) 塚崎邦弘：[白血病治療の進歩]成人 T 細胞白血病に対する新規治療. *Bio Clinica* 25(7):602-607,2010
- 5) 塚崎邦弘：[特集：リンパ系腫瘍研究におけるわが国からの情報発信と今後の課題]ATL 診療に関する国際的合意形成と ATL 臨床研

- 究の今後の方向性. 血液・腫瘍科 61(1): 7-14,2010
- 6) 塚崎邦弘: [第 71 回日本血液学会学術集会 シンポジウム 3 Recent Progress in Pathogenesis and Treatment for T/NK-cell Malignancies]ATL 診療に関する国際的合意. 臨床血液 51(7): 493-499,2010
- 7) 塚崎邦弘: [血液疾患における分子標的治療 ドラッグラグ解消に向けて] II. 悪性リンパ腫 B. 我が国で開発中もしくは開発予定の新規分子標的薬 11. IMiD (レナリドミド) によるATLを含むT細胞リンパ腫の治療と開発状況. 血液フロンティア別冊 20(S1): 1635-1640,2010
- 8) 塚崎邦弘: [第 72 回日本血液学会学術集会 教育講演 プログレッシブ P-4]ATL. 臨床血液 51(10): 1595-1606,2010
- 9) 今泉芳孝、塚崎邦弘: [エビデンスに基づくリンパ腫の治療とあらたな展開]成人T細胞白血病リンパ腫. 医学のあゆみ 235(5): 531-536,2010
- (和文書籍)
- 1) 塚崎邦弘、朝長万左男: 【2 白血球系疾患】 5. 慢性リンパ性白血病. 臨床病態学 第一巻 第四版 (北村聖総編集, ヌーヴェルヒロカワ(東京),p617-618 所収) 2010
- 2) 塚崎邦弘、朝長万左男: 【2 白血球系疾患】 6. 成人T細胞白血病・リンパ腫. 臨床病態学 第一巻 第四版 (北村聖総編集, ヌーヴェルヒロカワ(東京),p618-619 所収) 2010
- 3) 塚崎邦弘、朝長万左男: 【2 白血球系疾患】 9. 白血球機能異常症. 臨床病態学 第一巻 第四版 (北村聖総編集, ヌーヴェルヒロカワ(東京),p621-622 所収) 2010
- 4) 塚崎邦弘、朝長万左男: 【2 白血球系疾患】 11. 伝染性単核球症. 臨床病態学 第一巻 第四版 (北村聖総編集, ヌーヴェルヒロカワ(東京),p622-623 所収) 2010
- 5) 塚崎邦弘、朝長万左男: 【2 白血球系疾患】 12. 類白血病反応. 臨床病態学 第一巻 第四版 (北村聖総編集, ヌーヴェルヒロカワ(東京),p624 所収) 2010
- 6) 塚崎邦弘、今泉芳孝: 16CASE 皮疹と白血球増多を指摘された 56 歳男性. 血液疾患 BLOOD DISEASES (嘉数直樹、岡本真一郎編集, 日本医事新報社(東京), p 160-167 所収) 2010
- 7) 今泉芳孝、塚崎邦弘: XIII-3 リンパ腫. 診療ガイドライン UP-TO-DATE 2010-2011 (門脇 孝、小室一成、宮地良樹監修、(株)メディカルレビュー社 (大阪) ,p609-615 所収) 2010
- 8) 今泉芳孝、塚崎邦弘: [III. 血液腫瘍の治療・予後の現状]3. 慢性リンパ性白血病と成人T細胞白血病・リンパ腫. 血液疾患の病診連携. (鈴木淳司、竹尾高明、伊豆津宏二編集、(株)医薬ジャーナル社(大阪・東京) ,p78-88 所収) 2010
- 9) 塚崎邦弘: [II. T細胞リンパ腫]3. 成人T細胞白血病・リンパ腫の臨床病態と治療法の選択. 血液診療エキスパート 悪性リンパ腫. (金倉譲監修、鈴木律朗、伊豆津宏二、山口素子編集、(株)中外医学社 (東京) ,pp176-184 所収) 2010.
- 10) 塚崎邦弘: 50 歳の ATL リンパ腫型. 血清カルシウム値が 16ml/dl ある. さてどうしよう? 造血器腫瘍治療 2 版 これは困ったぞ、どうしよう! (押味和夫監修、木崎昌弘、松

村 到編集、(株)中外医学社(東京)、pp158-159 所収)2010.

- 11) 塚崎邦弘 : [VI. 造血器がん B. リンパ腫]6.ATL に対する治療のエビデンス. 日本独自のエビデンスは? 2011-2012 EBM がん化学療法・分子標的治療法(西條長宏監修、大津 敦、古瀬純司、中川和彦、徳田裕、南 博信、畠 清彦、田村和夫編集、(株)中外医学社(東京)、pp521-525 所収)2010.
- 12) 塚崎邦弘 : [IX章 血液・造血器系の症状・徴候と疾患 2. 血液・造血器系疾患]I. 伝染性単核球症. NURSING 看護学テキスト 疾病と治療II(総編集 松田 暉、萩原俊男、難波光義、鈴木久美、林 直子総編集、(金倉 譲担当編集)、(株)南江堂(東京)、pp257-258 所収)2010.
- 13) 塚崎邦弘 : [IX章 血液・造血器系の症状・徴候と疾患 2. 血液・造血器系疾患]M. 成人 T 細胞白血病/リンパ腫(ATL/ATLL). NURSING 看護学テキスト 疾病と治療II(総編集 松田 暉、萩原俊男、難波光義、鈴木久美、林 直子総編集、(金倉 譲担当編集)、(株)南江堂(東京)、pp267-268 所収)2010.

2. 学会発表

- 1) Tsukasaki K, Ogura M, Nagai H, Taguchi J, Suzuki T, Maruyama D, Uchida T, Oyama T, Hotta T, Tobinai k : Orlando, FL, 52th American Society of Hematology Annual Meeting : Phase I Study of Forodesine(BCX1777), An Oral PNP Inhibitor In Patients with Relapsed or Refractory T/NK Malignancies. Blood 116(21):750,2010
- 2) Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A,

Tsukasaki K, Katayama N, Seto M: Orlando, FL, 52th American Society of Hematology Annual Meeting Array Comparative Genomic Hybridization Revealed Polyclonality In Acute Type Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma and PTCL NOS. Blood 116 (21) :1277,2010

- 3) Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takamoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R : Orlando, FL, 52th American Society of Hematology Annual Meeting : Multicenter Phase II Study of KW-0761, a Defucosylated Anti-CCR4 Antibody, In Relapsed Patients with Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma(ATL). Blood 116(21):129,2010
- 4) Watanabe T, Morishima Y, Shibata T, Maseki N, Kinoshita T, Suzuki T, Yamaguchi M, Ando K, Ogura M, Taniwaki M, Uike N, Takeuchi K, Nawano S, Terauchi T, Tsukasaki K, Hotta T, Tobinai K : Orlando, FL, 52th American Society of Hematology Annual Meeting : Phase II/III Study of Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisolone with Rituximab (R-CHOP) Versus Biweekly CHOP with Rituximab (R-Bi-CHOP) In Untreated Advanced-Stage Indolent B-Cell Lymphoma: Japan Clinical Oncology Group (JCOG) 0203 Trial. Blood 116(21):193,2010
- 5) 渡邊俊樹、森内浩幸、塚崎邦弘、土居 浩、石母田 衆、宮村庸剛、小林行治 : 地域間連携シンポジウム 2010 in 長崎 ATL(成人 T 細胞白血病・リンパ腫)研究の推進にむけて : パネルディスカッション「ATL の最新情報