

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

ATL に対する骨髄非破壊的移植療法のキメラ解析およびウイルス動態の検討

研究分担者：岡村 純 九州がんセンター 小児科 医師

共同研究者：高田 豊 九州がんセンター 臨床研究センター（キメラ解析）

研究要旨 個人間で遺伝子配列長の多様な STR 領域の長さの違いに着目してキメリズムを評価した。方法は、10個の STR 領域を同時に増幅する PCR を使用し、蛍光検出型電気泳動装置にて生成物を解析した。ATL に対する骨髄非破壊的移植療法（RIC）の臨床試験（NST-1～NST-4）に登録された全65例で解析可能な STR 領域が存在し、移植後キメリズムの経過観察評価は STR により十分に遂行可能であった。また、患者の末梢血単核細胞から DNA を抽出して Real-time PCR 法により RIC 後の HTLV-1 プロウイルス量を経時的に測定した。RIC 後180日以内にプロウイルス量が測定感度以下（ <0.5 ）となって「陰性化する割合」は、血縁者間末梢血移植である NST-3 では、19例中12例（63%）、非血縁者骨髄移植の NST-4 では15例中13例（83%）であり、HTLV-1 陰性ドナーからの移植である NST-4 におけるプロウイルス量の陰性化は NST-3 と比較して速やかでかつ高率であった。

A. 研究目的

本研究班では、ATL に対する骨髄非破壊的移植療法（RIC）の検証的臨床試験を行っている。RIC を実施する上で、拒絶や再発の指標となるドナー/レシピエントの混合キメラ比率を正確に評価することおよび RIC 後の HTLV-1 プロウイルス動態の解析は極めて重要である。我々は、臨床試験と並行してキメラ比率と HTLV-1 プロウイルス量を定期的に測定して臨床経過との相関の有無を検討している。

B. 研究方法

対象：4種類の RIC プロトコール（NST-1、NST-2、NST-3、NST-4）に登録された65例で、NST-1、2、3は血縁者間（ドナーは、すべて HLA 一致同胞50例、幹細胞ソースは末梢血）、NST-4は非血縁者間（ドナーは、すべて HLA 一致非血縁ボランティア15例、幹細胞ソースは骨髄）の移植である。

方法：

1) RIC 後のキメラ解析：個人間で遺伝子配列長の多様な Short tandem repeat polymorphism (STR) を利用した蛍光 PCR プライマーによる混合キメラの定量法を用いて、ATL に対する

同種造血幹細胞移植におけるドナー・レシピエントのキメリズム動態を検討した。末梢血からゲノムDNAを抽出し、各STR polymorphism 領域（10領域）をAmpF/STR Profiler PCR Amplification Kit (PE Applied Biosystems) を用いてPCR法により増幅し、PCR産物の蛍光強度をABI310自動シーケンサーで測定した。PCR産物の蛍光強度の比率からドナー・レシピエントキメラ比率を算出した。遺伝子は通常ヘテロ接合体であり、各STRの領域のピークは標準では各々で2つのピークを示す。また、ホモ接合体の場合は各領域に1つのピークが、ほぼ2倍量のピークとして観察される。解析方法としてドナーとレシピエントでピークのパターンに差がある領域を解析するが、この時、片側ピークは同一長ピークが存在する領域を解析領域として選ぶ。これにより、同一長ピーク中のドナーアレル由来とレシピエントアレル由来のピーク量を、ドナーとレシピエントの各対立アレル由来ピークの量から割振り、ドナー型血球細胞の割合(キメラ値)を算出した。RIC後は、30、60、90、180、1年、その後は1年毎にキメラ解析を実施した。

2) HTLV-I プロウイルス量動態に関する研究：末梢血単核細胞 (PBMC) から DNA を抽出し、

HTLV-1 pX および β -globin に特異的な 2 種類の蛍光標識オリゴヌクレオチドプローブを用いた Real-time PCR 法 (Light Cycler) により HTLV-1 プロウイルス量を測定した。RIC 後、30、60、90、180、1 年、その後は 1 年毎にプロウイルス量を測定した。

(倫理面での配慮)

実施計画書について患者およびドナーに対して十分に説明し書類による同意書を得てから移植および研究を実施している。研究実施に伴う血液および骨髓検体の採取については、患者本人およびドナーから書類による同意書を得ている。すべての基礎研究について、各施設の倫理委員会での承認後に実施している。

C. 研究結果

初期研究の移植例である血縁者間移植 NST-1、NST-2 を含めても移植症例全 65 例で解析可能な STR 領域が存在しており、移植後キメリズムの経過観察評価は、我々の行った STR による評価法により十分に遂行可能であった (Table 1)。

Table1: 解析に使用した STR 領域の種類と頻度

NST#	D5S1455	vWA	FGA	AmpG181	TPO1	TPOX	CSF1PO	D2S1328	D18S517	D22S413	母体染色体
NST1	0	1	4	0	0	0	1	0	4	6	16
NST2	0	0	4	0	1	2	0	3	2	2	14
NST3	0	2	3	0	3	2	4	1	5	0	20
NST4	1	0	4	0	0	6	2	0	1	1	15
合計	1	3	15	0	4	10	7	4	12	9	65

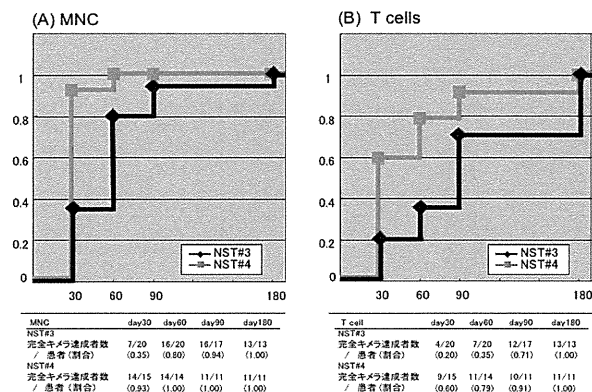
2011.09.30時点

(1-1) キメラ値を計算した遺伝子領域：血縁者移植と非血縁者間移植の相違：血縁者末梢血移植 NST-3 の 20 症例では、移植あたり解析可能な領域数は平均 5.4 (領域数は 2~9) であり、非血縁者間移植 NST-4 の 15 症例では、平均 5.3 (領域数は 2~9) であり、NST-3 との間に差は見られなかった。NST-4 では各 STR 領域中の両 allele のピークがどちらも不一致である領域数は 10 領域中平均 2.9 (領域数は 0~5) であった。血縁者間移植の NST-3 は 10 領域中平均 0.8 (領域数は 0~4)

であることと比べると、ドナーとレシピエントの遺伝的類似性がより小さいことが確認された。

(1-2) 移植片の生着と完全キメラの達成について：本研究では、患者の血球数に対してのドナー血球数の占める割合が 95% を超えるキメラ値が得られた時に、完全キメラ状態であると定義している。この完全キメラの達成者数の割合を、末梢血の観測ポイントの 30 日、60 日、90 日、120 日、180 日検体でプロットした (Figure 1)。

Figure.1 完全キメラ達成率の推移



移植後の患者血球全体を示す MNC (Mononuclear cell) 分画と比較すると、NST-4 では、完全キメラ達成者は 15 例中 14 例であり、血縁者間移植である NST-3 と比較するとその割合の推移は速やかであった。これは移植前処置の相違 (NST-3 ではフルダラビン/ブズルファン、NST-4 では、フルダラビン/ブズルファン+全身放射線照射) や移植ソースの影響によるものと思われた。また、T 細胞分画のみを比較すると、完全キメラ達成のスピードはさらに顕著であった。

(2) HTLV-1 プロウイルス動態に関する研究：(Table 2) NST-3 および NST-4 における RIC 後の HTLV-1 プロウイルス量の推移を Table 2 に示した。先行試験の NST-1/ NST-2 では、評価可能であった 28 例中 16 例 (57%) で、RIC 後 180 日以内にプロウイルス量が測定感度以下 (<0.5) となり陰性化した。NST-3/ NST-4 におけるプロウイルス量陰性化の割合：NST-3 の HTLV-1 陰性ドナーからの移植の場合、Day 30 で 12 例中 5 例 (42%)、Day 180 では 12 例中 10 例 (83%) であり、HTLV-1 陽

性ドナーからの移植では、各々7例中1例(14%)、7例中2例(29%)であり、非血縁骨髄を使用したNST-4(ドナーは全例がHTLV-I陰性)では、Day 30で15例中8例(53%)、Day 180では15例中13例(87%)であった。なお、NST-4で陰性化しなかった2例はいずれもRIC後早期の再発例であった。

Table 2: NST-3、NST-4におけるRIC後のHTLV-1プロウイルス量の陰性化頻度

臨床試験	HTLV	n	Day 30	Day 90	Day180
NST-3	(-)	13	5/12(42%)	8/12(67%)	10/12(83%)
	(+)	7	1/7(14%)	2/7(29%)	2/7(29%)
NST-4	(-)	15	8/15(53%)	11/15(73%)	13/15(87%)

D. 考察

本解析に用いたSTR法によるキメリズム解析は、ドナーが血縁か非血縁を問わずRICにおいて応用が可能であり、ドナー/レシピエントの識別が困難な症例はなかった。非血縁者間移植であるNST-4では、完全キメラ達成者は15例中14例であり、血縁者間移植であるNST-3と比較するとその割合の推移は速やかであった。RIC後のHTLV-Iプロウイルス量動態の解析では、非血縁者骨髄を使用したNST-4において血縁者間移植と比較して、プロウイルス量の陰性化は速やかであった。一旦陰性化したHTLV-Iプロウイルスが、正常リンパ球に感染していく経緯や割合については今後長期の観察が必要と考えられる。

E. 結論

STR法によるキメラ比率の測定やReal-time PCR法によるHTLV-Iプロウイルス動態の解析はATLに対するRIC後の経過観察には有効な手段であると考えられる。キメラ比率やプロウイルス量は、移植ソースや前処置法の相違により影響を受けると考えられるが、さらに詳細な解析を必要とする。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J on behalf of the ATLL allo-HSCT study group. Long-term outcomes after hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL): results of prospective trials. *Bone Marrow Transplantation*, 46(1):116-118, 2011
- Takamori A, Hasegawa A, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Masuda M, Shimizu Y, Tamai Y, Sasada A, Zeng N, Choi I, Uike N, Okamura J, Watanabe T, Masuda T, Kannagi M. Functional impairment of Tax-specific but not cytomegalovirus-specific CD8⁺ T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type I-carriers. *Retrovirology*:100 doi:10.1186/1742-4690-8-100, 2011
- Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood*. 119(9):2141-8 : Mar 1. 2012

2. 学会発表

- Hasegawa A, Takamori A, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Shimizu Y, Tamai Y, Sasada A, Zeng N, Choi I, Uike N, Okamura J, Watanabe T, Masuda T, Kannagi K. Functional impairment of Tax-specific but not CMV-specific CTLs in a minor popula-

- tion of asymptomatic HTLV-I-carriers. 15th International Conference on Human Retrovirology, Leuven, Belgium June 5-8, 2011
2. Uike N, Tanosaki R, Utsunomiya A, Choi I, Okamura J. Can allo-SCT with RIC cure ATLL? : Long-term survivors with excellent PS and with heterogenous HTLV-1 proviral load level. 15th International Conference on Human Retrovirology, Leuven, Belgium, June 5, 2011
 3. Utsunomiya A, Uike N, Choi I, Tanosaki R, Kannagi M, Okamura J. Recent Advances in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma. The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases September 15 (Thu)-17 (Sat), 2011, Tokyo, Japan.
 4. 笹田亜麻子、長谷川温彦、清水由紀子、末廣陽子、鶴池直邦、豊嶋崇徳、谷憲三朗、森尾友宏、福田哲也、三浦修、宇都宮與、松岡雅雄、岡村純、神奈木真理. ATLL に対する新規ペプチドパルス樹状細胞療法に向けた基礎解析と第 I 相臨床試験コールドラン. 第70回日本癌学会総会、名古屋市、2011年10月3-5日
 5. Eto T, Choi I, Tanosaki R, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Takemoto S, Taguchi J, Fukushima T, Kato K, Teshima T, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N. A prospective feasibility trial of unrelated bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning regimen for elderly patients with adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL), #40574, 53th ASH Annual Meetings, San Diego, December 10-13, 2011

2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

平成24年度
総括・分担研究報告書

目 次

I. 総括研究報告

- 成人 T 細胞性白血病 (ATL) の根治を目指した細胞療法の確立およびその HTLV-1 抑制メカニズムの解明に関する研究 鶴池 直邦 ……………115

II. 分担研究報告

1. CCR4 抗体治療がもたらす、ATL 患者における免疫病態変化の解明 石田 高司 ……………124
2. Multi-color FACS による末梢血 ATL 細胞の評価 内丸 薫 ……………127
3. 宿主抗腫瘍免疫応答解析 神奈木真理 ……………129
4. ATL のゲノム異常解析 瀬戸 加大 ……………133
5. ATL に対する骨髓非破壊的移植法におけるプロウイルス解析 安永純一郎 ……………137
6. 臨床試験の計画と解析 山中 竹春 ……………140
7. フローサイトメーターによる ATL 細胞と免疫細胞の同時解析 渡辺 信和 ……………142
8. 成人 T 細胞白血病-リンパ腫の同種造血幹細胞移植後のサイトメガロウイルス pp65 抗原陽性に関する検討 宇都宮 與 ……………148
9. ATL に対する骨髓非破壊的移植療法のキメラ解析およびウイルス動態の検討 岡村 純 ……………153
10. ATL に対する同種造血幹細胞移植療法の成績向上に関する研究 重松 明男 ……………157
11. 成人 T 細胞白血病 (ATL) に対する HTLV-1Tax 特異的 T 細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた新規免疫療法第 I 相臨床試験 末廣 陽子 ……………159
12. 再発難治の B 細胞性悪性リンパ腫に対する非血縁者間臍帯血移植 谷口 修一 ……………163
13. 成人 T 細胞性白血病 (ATL) に対する根治を目指した細胞療法の確立に関する臨床研究 田口 潤 ……………165
14. 成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL) の根治を目指した同種細胞療法の開発・確立とその機序の解明に関する研究 田野崎隆二 ……………167
15. ATL に対する骨髓非破壊的移植療法の検討 崔 日承 ……………171
16. 同種造血幹細胞移植後の抗白血病効果を促進する試み 豊嶋 崇徳 ……………173
17. 成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL) に対する骨髓非破壊的移植前処置を用いた非血縁臍帯血移植の安全性検討試験 中前 博久 ……………175
18. 成人 T 細胞性白血病リンパ腫に対する同種臍帯血移植 長藤 宏司 ……………178
19. ATL に対する非血縁者間造血幹細胞移植成績の検討 福田 隆浩 ……………180
20. ATL に対する臍帯血ミニ移植 森内 幸美 ……………183

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

総括研究報告書

成人 T 細胞性白血病（ATL）の根治を目指した細胞療法の確立および
そのHTLV-1 抑制メカニズムの解明に関する研究

（H22-がん臨床-一般-028）

研究代表者：鶴池 直邦 国立病院機構九州がんセンター血液内科 部長

研究要旨 高齢者 ATL 患者に対して同種造血幹細胞を利用した骨髄非破壊的移植療法（RIST）の
前向き試験は、今年度は7月に第3期試験を終了し、その後は第5期試験である非血縁臍帯血移植に専
念した。現在登録7症例、移植終了5症例で、安全性にいまのところ問題はない。樹状細胞ワクチン
療法（第I相）の臨床試験が、九州大学および東京医科歯科大学医学部倫理委員会において承認され、
現在、3症例登録、九大でこのうち2症例は試験終了し安全性に問題はなかった（1症例目は半年以
上PRが、2症例目は約4ヶ月間SD）。あと1症例は現在2回樹状細胞投与終了している。樹状細胞
ワクチン療法の症機序について、現在詳細に検討中である。

研究分担者

1. 石田 高司 名古屋市立大学 准教授
2. 内丸 薫 東京大学医科学研究所 准教授
3. 神奈木真理 東京医科歯科大学 教授
4. 瀬戸 加大 愛知県がんセンター研究所
副所長兼部長
5. 安永純一郎 京都大学ウィルス研究所 講師
6. 山中 竹春 国立がん研究センター 室長
7. 渡辺 信和 東京大学医科学研究所
特任准教授
8. 宇都宮 與 慈愛会今村病院分院 院長
9. 岡村 純 九州がんセンター 医師
10. 重松 明男 北海道大学病院 助教
11. 末廣 陽子 九州がんセンター 医長
12. 谷口 修一 虎の門病院 部長
13. 田口 潤 長崎大学大学院 助教
14. 田野崎隆二 国立がん研究センター 科長
15. 崔 日承 九州がんセンター 医師
16. 豊嶋 崇徳 九州大学（～7月） 准教授
北海道大学病院（8月～）教授
17. 中前 博久 大阪市立大学 准教授
18. 長藤 宏司 久留米大学 准教授
19. 福田 隆浩 国立がん研究センター 科長
20. 森内 幸美 佐世保市立総合病院
管理診療部長

A. 研究目的

急速に高齢化する ATL 患者に対する同種造血
幹細胞を利用した RIST を最大限に活用するため、
その幹細胞源を非血縁臍帯血にまで拡大し、その
効果を享受してもらうことを目的として、第5期
試験（NST-5）を計画した。RIST の HTLV-1 排
除機構を解明し、新たな免疫療法である自己樹状
細胞を用いた樹状細胞ワクチン療法・ATL-DC-1
（第I相）を開始した。この試験は ATL では first
-in-human でありその意義は大きい。

B. 研究方法

1) ATL に対する血縁者間末梢血幹細胞を利用
した骨髄非破壊的前処置療法による同種造血幹
細胞移植術（RIST、ミニ移植）の安全性と有効性
に関する検討

第3期臨床試験の実施及びその結果：前処置を第
2期試験と同一にした臨床試験（NST-3、第2相）
を実施した。移植対象症例は、急性型およびリン
パ腫型 ATL で、高齢であること（50歳-70歳）
や臓器障害があるなどの理由で通常の血縁/非血
縁者間同種造血幹細胞移植の適応にならない患者。
また、血清学検査において、HLA 6/6 一致の血
縁ドナーを有した者とした。健康な HLA 一致血
縁ドナーに対し G-CSF を5日間投与し、4日目
からアフエレーシスを行って末梢血幹細胞を採取

した。主要評価項目は、本移植術による2年全生存率で、副次的評価項目は、移植後100日時点での全生存率および無増悪生存率、生着・完全キメラの達成（移植後 day 90±7でのドナー由来細胞が90%以上）、移植後180日時点での全生存率、移植後2年時点での無増悪生存率、GVHDの頻度・重症度、GVHDの発症時期とキメラとの関係、GVHDと抗腫瘍効果、全生存率および無増悪生存率との関係、抗ウイルス（HTLV-1）効果、抗ウイルス効果との関係、混合キメラに対するドナーリンパ球輸注の効果と毒性などである。予定症例数は35例であったが、症例集積のスピードが予想以上に遅く、計15例で登録を終了した。

2) ATLに対する非血縁者間幹細胞を利用した RIST の検討

非血縁者間骨髄を利用した RIST の前向き臨床試験（第4期試験、NST-4）の実施：骨髄バンクドナーを介した高齢者 ATL 患者に対する RIST の実施可能性を検討する第 I 相試験を開始した。幹細胞源が、末梢血ではなく骨髄であることが特異なところである。これまで本研究班の RIST で用いてきたフルダラビン・ブスルフェンを移植前処置として採用し、さらに生着をより確実にするために低線量放射線全身照射（TBI）2Gy を施行することにした。また GVHD 予防については、非血縁者間移植で広く用いられているタクロリムス+短期メソトレキセートを使用することとした。対象は、50歳以上65歳未満の急性型あるいはリンパ腫型で、血縁ドナーが存在しない患者とし、100日の生存と完全キメラ達成を主要評価項目、予定登録数は15症例で、平成23年7月で登録を終了した。

3) ATLに対する非血縁臍帯血幹細胞を利用した RIST の検討

非血縁臍帯血を利用した RIST の前向き臨床試験（第5期試験、NST-5）の実施：最も良いタイミングで移植が可能である非血縁臍帯血を幹細胞源とした高齢者 ATL に対する RIST の安全性、実現可能性を検討する第1相試験を開始する。臍帯血移植の前処置としてある程度確立しているフルダラビン・メルファラン・TBI（4Gy）を前処置に、

タクロリムス・MMF を GVHD 予防に用いる。対象は血縁および JNDP に適切なドナーを有さない50～65歳未満の急性型またはリンパ腫型の患者で、移植後100日までの生着かつ生存を主要評価とした。予定登録例数は15例である。

4) 免疫療法の検討

既治療 ATL 患者に対する Tax 特異的 T 細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた免疫療法第1相試験（DC-1）の実施：神奈木らは本研究における RIST 後に長期寛解を維持した一部の症例では、抗腫瘍免疫機構が発動し、HTLV-1 Tax を標的抗原とした特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）が誘導されること、そのエピトープを同定した。それを臨床応用する目的で「既治療 ATL 患者に対する Tax 特異的 T 細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた免疫療法」第1相試験（ATL-DC-1）を計画した。移植対象症例は、既治療の ATL 患者（HLA-A2402、A0201、A1101を有する症例）、3+3（計6～12）例における樹状細胞2段階投与漸増第1相試験である。主要評価項目はペプチドパルス樹状細胞ワクチン投与の安全性、副次的評価項目は Tax 特異的 T 細胞応答の誘導、抗 HTLV-1 効果、抗白血病効果である。

5) 移植療法に伴う基礎的解析

(5-1) ATL のゲノム異常：同一 ATL 患者で、末梢血腫瘍細胞とリンパ節腫瘍細胞間でゲノム異常様式が異なる症例が、13症例中9症例（70%）と高率に認められることから、急性型 ATL 患者リンパ節には複数の腫瘍細胞が存在することを明らかにした。これらの解析に基づき、末梢血検体を用いて慢性型 ATL と急性型 ATL のゲノム異常を比較し、慢性型 ATLL と急性型 ATL に共通して認められるゲノム異常領域と、急性型に特徴的に認められるゲノム異常領域のふたつの存在を見出した。その領域の一部は慢性型 ATL が悪性化するときに関与する可能性が示唆される。（瀬戸班員）

(5-2) フローサイトメーターによる ATL 細胞と免疫細胞の同時解析：ATL に対する臍帯血移植、

樹状細胞免疫療法におけるキメリズム動態、ATL細胞と制御性T細胞（Treg）、およびそれらの細胞におけるCCR4発現レベルの解析を12カラーのフローサイトメーター（FCM）を使用して行った。その結果、移植後早期のATL細胞動態の検出に加え、TregやCCR4発現レベルの詳細な解析が可能であった。マルチカラーFCMによる本解析システムは、新たな細胞療法や新規薬剤療法における臨床所見、免疫担当細胞や腫瘍細胞自体の動態を解明する手段として、極めて有用なツールとなる可能性がある。（渡辺班員）

(5-3) TCSL1抗体を組み込んだ multi-color FACS (HTLV-1 Analysis System ; HAS) の確立：我々が開発した急性型ATL症例の末梢血中の腫瘍細胞を同定するための multi-color FACS (HTLV-1 Analysis System : 以下 HAS) は、TSLC1抗体を組み込むことにより移植後の症例においてもATL細胞を高感度、かつ特異的に同定することが可能と考えられた。明瞭にATL細胞を同定することができた。移植後再発の症例ではTSLC1 dim (+) でかつHTLV-1のHBZ領域の増幅 (-) という特異的な細胞集団が同定され、この細胞集団を移植後早期に解析することにより、再発に対する早期介入が実行できる可能性がある。

(5-4) ATLに対する骨髄非破壊的移植療法におけるプロウイルス解析：本研究班の移植登録例 (NST-1-4) では、完全型プロウイルスの頻度が有意に高く、tax変異は有意に少なかった。現時点ではNST-3・4の登録例では完全型プロウイルスを有する症例では移植後再発が少ない傾向にある。これらの所見から、taxを発現可能な症例は移植療法にまで到達する可能性が高く（移植療法に入る時点ですでにtax発現症例がある程度セレクトされている）、移植の有効性も高いことが示唆される。

(5-5) CCR4抗体治療がもたらす、ATL患者における免疫病態変化の解明：ヒト化CCR4抗体 (Mogamulizumab) はCCR4を発現した腫瘍細胞のみならず、健全な制御性T細胞 (Treg) を除去する作用を有する。Tregの存在は腫瘍細胞の宿主免疫応答回避に重要な役割を果たしており、

抗腫瘍免疫の増強につながることを期待されている。固形がん免疫療法の標的となっているがん・精巢抗原がATLで高頻度に発現しており、免疫療法の標的抗原となりうることを見出した。さらに従来、病期が進行したATL患者では発現が限定的と考えられていたTaxは、末梢血ではなく、ATL細胞の増殖の場（リンパ節）で高頻度とその発現を認め、ATLに対する免疫療法の標的抗原になりうることを見出した。これらの抗原に対する免疫反応はMogamulizumab治療後の患者で強く認め当薬によるTreg除去の関与が強く示唆された。今後、これら標的抗原に対する免疫療法の臨床開発、および同種造血幹細胞移植時におけるモガムリズマブの適正な使用法確立を目指す。

（倫理面への配慮）

各施設における倫理委員会での承認後、実施計画書について患者およびドナーに対して十分に説明し書類による同意書を得てから移植および研究を実施している。研究で得られた結果は、匿名化するとともに、日本臨床支援ユニットおよび研究班事務局において厳重に管理し個人のプライバシーに配慮している。研究実施に伴う血液および骨髄検体の採取についても患者本人およびドナーから書類による同意書を得ている。すべての基礎研究についても、各施設の倫理委員会での承認後に実施している。

C. 研究結果

1) ATLに対する血縁者間末梢血幹細胞を利用した骨髄非破壊的前処置療法による同種造血幹細胞移植術 (RIST、ミニ移植) の安全性と有効性に関する検討

第3期臨床試験の実施：本来の登録期間を2年間延長したにもかかわらず症例の集積が進まず、2012年7月効果安全評価委員会の承認に基づき症例登録を終了した。9施設から20例の移植（実施期間 2006年10月から2011年7月）を実施した。年齢中央値54 (50-68) 歳男性/女性 10/10、病型急性型/リンパ腫型 12/8、移植時病期CR/PR/NC9/8/3、ドナーHTLV-1抗体陽性/陰性 7/13、患者ドナー関係兄弟/子 17/3で

あった。2013年4月1日時点で9例生存中（生存者の観察期間中央値737日「382-1856」）であり、1年生存率 69.6±10.4%、2年生存率 51.7±12.0%であった。

2) ATLに対する非血縁者間骨髄細胞を利用したRISTの結果

目標症例数の15例に達し、ほぼ予定通り2012年4月に登録を終了した。患者の平均年齢58（51～62）歳、男/女 7/8、移植直前の病期 CR/PR/NC/PDは7/6/1/1であった。病期患者・ドナー間のHLA一致度は、完全一致9/15例、DR一座不一致4/15、CとDRの2座不一致12/15であった。13/15が主要評価項目である100日以内の生着かつ生存を達成し、NST-4試験は成功と判断された。100日以内の死亡はTMAが死因の1例のみ、もう1例の死亡は再発であった。平均観察期間440日の段階での全生存期間は72.7%±1.7%である。

3) ATLに対する非血縁臍帯血幹細胞を利用したRISTの結果

6例の移植（実施期間 2012年9月から2013年3月）を5施設で実施した。年齢中央値 63（57-65）、男性/女性 4/2、急性型/リンパ腫型 4/2、移植時病期 CR/PR 3/3であった。2013年4月1日時点で死亡例の報告無し（観察期間中央値 61日[13-189]）であった。

4) 免疫療法の検討

既治療ATL患者に対するTax特異的T細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた免疫療法第1相試験（DC-1）の実施：現在3症例が登録、3症例が治療完了、うち2症例にPR（臨床的にdurationの取れるPRで、すでに半年以上PRを維持している）とSD（これも臨床的にdurationのとれるSDでおおよそ4ヶ月持続している）が得られた。残りの1症例は投与中である。現在のところ3症例ともDLTはみとめなかった。

5) 移植療法に伴う基礎的解析

(5-1) ATLのゲノム異常：いままで実施した解析に基づき、末梢血検体を用いて慢性型ATLと

急性型ATLのゲノム異常を比較し、慢性型ATLLと急性型ATLに共通して認められるゲノム異常領域と、急性型に特徴的に認められるゲノム異常領域のふたつの存在を見出した。その領域の一部は慢性型ATLが悪性化するときに関与する可能性が示唆される。（瀬戸班員）

(5-2) TCCL1抗体を組み込んだmulti-color FACS（HTLV-1 Analysis System；HAS）の確立：移植後再発の症例ではTSLC1 dim（+）でかつHTLV-1のHBZ領域の増幅（-）という特異的な細胞集団が同定され、この細胞集団を移植後早期に解析することにより、再発に対する早期介入が実行できる可能性がある。

(5-3) ATLに対する骨髄非破壊的移植療法におけるプロウイルス解析：これまでの所見から、taxを発現可能な症例は移植療法にまで到達する可能性が高く（移植療法に入る時点ですでにtax発現症例がある程度セレクトされている）、移植の有効性も高いことが示唆される。（安永班員）

(5-4) CCR4抗体治療がもたらす、ATL患者における免疫病態変化の解明：これらの抗原に対する免疫反応はMogamuliz-umab治療後の患者で強く認め当薬によるTreg除去の関与が強く示唆された。今後、これら標的抗原に対する免疫療法の臨床開発、および同種造血幹細胞移植時におけるモガムリズマブの適正な使用法確立を目指す。（石田班員）

D. 考察

主要評価項目である100日以内の生着かつ生存を13/15例が達成し、成功と判断された（NST-4）。100日以内の死亡は2例[直接死因；TMAと再発]のみであった。現時点での全生存期間は72.7%±1.7%（平均観察期間440日）であり、生存率においても血縁者より高い水準を示している。移植後のHTLV-1プロウイルス量の推移をNST-3およびNST-4と比較した。結果はドナーがHTLV-1のキャリアーかそれとも健康正常人かによって若干の相違（ドナーがHTLV-1プロウイルス陰性正常健康人の方が、ドナーがHTLV-1キャリアーの場合よりも、RIST後のプロウイルスの陰性化率がより大きく、またそのスピードもより速

かった) がみられたことは、興味深い。ATL 患者の高齢化に伴う血縁者ドナー確保が困難な状況下であること、他の疾患の移植においても患者が高齢の場合とはくにドナーの年齢が関与することがある (ドナーが30歳を境に移植成績が異なる; 30歳以下の場合が成績が良い) ことから、非血縁者骨髄を用いた RIST の成績がドナーが血縁者の RIST に劣らないと予測できることは、ATL に対する移植医療の有用性が将来さらに高まることを期待させるものである。

NST-5 の登録は比較的順調 (すでに目標症例数の約半数が登録されている) で、かついままでのところ、安全性も達成できている。ATL に対する非血縁者臍帯血を用いた RIST は実臨床では一般に成績不良と考えられている。実臨床では大多数が進行期に移植が施行され、治療関連死、再発死ともに多いためであると考えられる。血縁者・非血縁者に適切なドナーがない場合、ATL の病状が良い状態の時に計画的に非血縁臍帯血 RIST を施行することで、その安全性・有効性がどの程度のものかをさらに第5期試験 (NST-5) で検証していく必要がある。

樹状細胞ワクチン療法 (HTLV-1 ウイルス抗原である Tax を標的としている) は、現在まで3症例が実施されており、第1例目がおよそ6ヶ月間 PR を、第2例目がおよそ4ヶ月間 SD を維持している。臨床効果は通常の免疫療法より迅速に強力に発現している。これは今までの免疫療法とは明らかに異なることである。第3例目も投与終了しているが効果判定は未である。また、元来この臨床試験は6例登録で開始されたが、この3例で安全性はほぼ証明されたと考えられること、また一度のアフェレーシスでは3回分の樹状細胞数がやっと確保できる程度しか採取できないことから、おそらくこれで第I相試験を終了とし、今後は第I/II相ないし第II相試験として再開する方が合理的であると考えられる。この試験は ATL に対する樹状細胞ワクチン療法としては first-in-human であり、世界的に注目されるべきであり、その詳細なメカニズムを現在検討中である。

E. 結論

高齢者 ATL に対する RIST は、その細胞源にかかわらず免疫機序による抗 AATL 効果により、潜時的にはそれを治癒にいたらしめる潜在能力を持っていると思われる。したがって、RIST の細胞源を広げていくことはもちろん、さらに樹状細胞ワクチン療法を可及的すみやかに推進し、新薬 (抗CCR4 抗体) とのコンビネーションをうまく取り入れれば、その免疫療法の感受性をあげることにより、治癒率の向上、しいては ATL の撲滅へと導いてくれる日はそう遠くないと思われる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Yamashita K, Tsukasaki K, Suzushima H, Ohno Y, Matsuoka H, Jo T, Suzumiya J, Tamura K. Prognostic index for acute- and lymphom-type adult T-cell leukemia/lymphoma. JCO 30:1635-160, 2012.
2. Kikuma K, Watanabe J, Oshiro Y, Shimogama T, Honda Y, Okamura S, Higaki K, Uike N, Soda T, Momosaki S, Yokota T, Toyoshima S, Takeshita M. Etiological factors in orimary hepatic B-cell lymphoma. Virchows Arch 460:379-387, 2012.
3. Nakagawa M, Uike N, Chou I, Hayashi T, Uehara S. Efficacy and safety of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan in Japanese patients with non-Hodgkin lymphoma. Jpn J Radiol 30:642-647, 2012.
4. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T,

- Utsunomiya A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on pre-conditioning regimen : a nationwide retrospective study. *Blood* 120:1734-1741, 2012.
5. 鶴池直邦. ATL に対する同種細胞移植療法. *血液フロンティア* Vol.22 No.2, 243-249, 2012 Feb. 2012, 医薬ジャーナル社.
 6. 本多絵美、崔日承、安部康信、永澤恵理子、松島孝充、白土基明、鶴池直邦. 同種造血幹細胞移植を施行した HTLV-1 associated yelopathy (HAM) 合併成人 T 細胞白血病の 1 例. *臨床と研究* 2012;89:387-390.
 7. 鶴池直邦. 特集・ホジキンリンパ腫の研究と診療-Update in 2011-ホジキンリンパ腫治療の晩期毒性と二次性悪性腫瘍. *血液内科* 64 (3) : 287-292, 2012, 2012年 5月号, (有) 科学評論社.
 8. 鶴池直邦. 特集：血液腫瘍の標準治療2012-非専門医のための生涯教育テーマⅡ. 総合医にとって診察機会が比較的に高い造血器腫瘍濾胞性リンパ腫. *成人病と生活習慣病* Vol.42 No.6, 726-731, 2012年 6月号, (株) 東京医学社.
 9. 安部康信、崔日承、池田元彦、松島孝充、末廣陽子、白土基明、鶴池直邦. 血小板減少患者における血漿トロンボポエチン値の検討. *臨床血液* 53:632-634, 2012.
 10. 鶴池直邦. 総論・新薬情報・B 細胞リンパ腫の最新治療について, *group nexus 通信*, 27: 2-13, 2012.
 11. 飛内賢正、大間知謙、岡田昌也、鶴池直邦. 座談会 濾胞性リンパ腫に対する治療戦略. *血液内科* 65 (1) : 165-176 2012, 2012年 7月号, (株) 科学評論社.
 12. 鶴池直邦、宇都宮與. 血液内科医に聞く、ATL 治療に登場した期待の新薬 (2012.0807) がナビ>Report 日経 BP 社
 13. 鶴池直邦. チーム医療と臨床支援 輸血部門のあり方と認定輸血技師の必要性. *国立病院臨床検査技師協会会報*、2012年10月号.
 14. 安部康信、鶴池直邦. 特集 血液内科領域における抗腫瘍薬の作用機序・副作用に基づく使い分け. 抗 CD20抗体の作用機序による使い分けと新規薬剤の特徴, 開発の現状. *血液内科* 65 (4) : 465-472 2012, 2012年10月号, (株) 科学評論社
 15. 武藤敏孝、安部康信、池田元彦、崔日承、宮下要、末廣陽子、松島孝充、白土基明、高月浩、鶴池直邦. ボルテゾミブ治療が奏功し、骨形成を認めた髄外形質細胞腫 2 症例. *臨床と研究* 89 (12) : 1700-1702, 2012年12月号, 大道學館出版部.
- ## 2. 学会発表
- ### 《国際学会》
1. Choi I, Eto T, Tanosaki R, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Takemoto S, Taguchi J, Fukushima T, Kato K, Teshima T, Nakamae H, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N. Kinetics of HTLV-1 Provirus Load after Unrelated Bone Marrow Transplantation (uBMT) with Reduced Intensity Conditioning Regimen (RIC) for Elderly Patients with Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATL), T-cell Lymphoma Forum, January 26-28, 2012, San Francisco, CA.
 2. Kihara R, Kiyoi H, Ohtake S, Miyawaki S, Miyazaki Y, Asou N, Sakura T, Ozawa Y, Usui N, Kanamori H, Kiguchi T, Imai K, Uike N, Kimura F, Naoe T. Allogeneic stem cell transplantation at the primary induction failure or after the 1st relapse dose not conquer poor prognosis of AML with FLT3-ITD. The 3rd Japanese Society of Hematology International Symposium 2012 in Kawagoe, May 26-27 2012, Kawagoe.
 3. Ogura M, Ando K, Niitsu N, S. J. Kim, Ohmachi K, Takahashi M, Uchida T, Takahashi N, Uike N, H. S. Eom, Y.S Chae, Terauchi T, Tateishi U, Tatsumi M, W. S.

- Kim, C.suh, Tobinai K. A multicenter Phase II study of Bendamustine with Rituximab inpatients with relapse/refractory diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). American Society of Clinical Oncology Annual Meeting. June 1-5, 2012, Chicago, Illinois.
4. Moriuchi Y, Fukushima T, Nomura S, Shioyama M, Utsunomiya A, Shibata T, Ishitsuka K, Yoshida S, Uike N, Hata H, Kawano F, Sueoka E, Uozumi K, Masuda M, Yamada Y, Kaba H, Watanabe Y, Fukuda H, Hotta T, Tobinai K, Tsukasaki K. Characterization of long-term survivors and an prognostic model for aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) : An ancillary study by the Japan Clinical Oncology Group, JCOG0902A. 2012. American Society of Clinical Oncology Annual Meeting. June 1-5, 2012, Chicago, Illinois.
 5. Uike N, Ogura M, Imaizumi Y, Asou N, Utsunomiya A, Uchida T, Aoki T, Tsilasalo L, Taguchi J, Choi I, Maruyama D, Nosaka K, Chen N, Shiota T, Tobinai K. Multicenter Phase I Dose-Escalation Study of Lenalidomide in Patients with Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma (ATL) or Peripheral T-Cell Lymphoma (PTCL). 54th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Dec. 8-11, 2012, Atlanta GA.
 6. Ogura M, Hatake K, Taniwaki M, Ando K, Tobinai K, Fujimoto K, Yamamoto K, Miyamoto T, Uike N, Tanimoto M, Tsukasaki K, Ishizawa K, Suzumiya J, Inagaki H, Tamura K, Akinaga S, Tomonaga M, Ueda R. Multicenter Phase II Study of Mogamulizumab (KW-0761), a Defucosylated Anti-CCR4 Antibody, in Patients with Relapsed Peripheral and Cutaneous T-Cell Lymphoma. 54th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Dec. 8-11, 2012, Atlanta GA.
- 《国内学会》
1. 安部康信、白土基明、崔日承、池田元彦、末廣陽子、鶴池直邦. 造血幹細胞移植後の血小板減少例における血漿トロンボポイエチン濃度の検討, 第34回日本造血細胞移植学会総会, 2012年2月24~25日, 大阪
 2. 末廣陽子、池田元彦、武岡宏明、崔日承、安部康信、鶴池直邦. 治療関連白血病/MDSの移植成績, 第34回日本造血細胞移植学会総会, 2012年2月24~25日, 大阪
 3. 崔日承、池田元彦、武岡宏明、末廣陽子、安部康信、鶴池直邦. 再発難治性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫に対する自家末梢血幹細胞移植, 第34回日本造血細胞移植学会総会, 2012年2月24~25日, 大阪
 4. 末廣陽子、池田元彦、崔日承、安部康信、鶴池直邦. マクログロブリン血症を伴う再発・難治低悪性度B細胞リンパ腫に対するリツキシマブ併用ベンダムスチン療法の効果, 第52回日本リンパ網内系学会総会, 2012年6月14~16日, 福島
 5. 崔日承、池田元彦、末廣陽子、安部康信、鶴池直邦. 当科における精巣びまん性大細胞型B細胞リンパ腫の検討, 第52回日本リンパ網内系学会総会, 2012年6月14~16日, 福島
 6. 崔日承、高松明子、末廣陽子、安部康信、鶴池直邦. Free light-chainにて治療経過を追った非分泌型多発性骨髄腫の一例, 第37回日本骨髄腫学会学術集会, 2012年7月7-8日, 京都
 7. 高松明子、崔日承、末廣陽子、安部康信、鶴池直邦、古川正幸、藤山隆. Zevalinによる放射免疫療法後に二次性膵癌を発症した濾胞性リンパ腫の一例, 第2回日本血液学会九州地方会, 2012年7月7日, 福岡
 8. Oda N, Ikeda M, Choi I, Suehiro Y, Abe Y, Uike N. Bendamustine with Rituximab for Relapsed or Refractory Low-grade B-Cell

- Lymphoma. The 10th Annual Meeting of Japanese Society of Medical Oncology, July 26-28, 2012, Osaka, Japan (一般口演)
9. Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Suzumiya J, Tamura K. A Prognostic Index for Acute and Lymphoma Type Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. The 10th Annual Meeting of Japanese Society of Medical Oncology, July 26-28, 2012, Osaka, Japan
 10. 勝屋弘雄, 山中竹春, 石塚賢治, 宇都宮與, 佐々木秀法, 花田修一, 衛藤徹也, 森内幸美, 佐分利能生, 宮原正晴, 末岡榮三朗, 鶴池直邦, 吉田真一郎, 鈴宮淳司, 田村和夫. 全国調査から見た成人 T 細胞白血病・リンパ腫に対する診療実態, 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2012年7月26日~28日, 大阪
 11. 末廣陽子, 高松明子, 崔日承, 安部康信, 鶴池直邦. 再発難治 ATL にモガムリズマブを投与し免疫動態を解析し得た一例, 第5回 HTLV-1 研究会, 2012年8月25日~26日, 東京
 12. 長谷川温彦, 高森絢子, 宇都宮與, 前田裕弘, 山野嘉久, 増田昌人, 清水由紀子, 玉井洋太郎, 笹田亜麻子, 崔日承, 鶴池直邦, 岡村純, 渡邊俊樹, 神奈木真理. HTLV-1 感染者における Tax 特異的 T 細胞応答および ATL 発症予防, 第5回 HTLV-1 研究会, 2012年8月25日~26日, 東京
 13. 神奈木真理, 長谷川温彦, 高森絢子, 笹田亜麻子, 玉井洋太郎, 崔日承, 末廣陽子, 鶴池直邦. シンポジウム・HLA とウイルスー新しい臨床展開-ヒト T 細胞白血病ウイルスに対する獲得免疫の臨床への応用, 第21回日本組織適合性学会大会, 2012年9月15-17日, 東京
 14. Oda H, Arakawa M, Choi I, Suehiro Y, Abe Y, Uike N. Identification of EZH2 histone methyltransferase gene mutation among Japanese non-Hodgkin lymphoma patients. (Japanese Oral Sessions) The 71th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. September 19-21 2012, Sapporo.
 15. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Etoh T, Koh H, Suehiro Y, Okamura J, Uike N, Kannagi M. A novel HLA-DR1-restricted epitope recognized by Tax-specific CD4+T cells in ATL patients after allo-HSCT. (Japanese Oral Sessions) The 71th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. September 19-21 2012, Sapporo.
 16. Choi I, Eto T, Tanosaki R, Utsunomiya A, Fukushima T, Teshima T, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N. Clinical trial of unrelated bon marrow transplantation with reduced intensity conditioning for elderly ATL patient. The 71th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. September 19-21 2012, Sapporo.
 17. Kihara R, Kiyoi H, Miyawaki S, Miyazaki Y, Asou N, Usui N, Uike N, Kimura F, Kitamura K, Takeshita A, Miwa H, Naoe T. Prognosis of AML patients registered to JALSG AML201 study according to the ELN genetic risk classification. (English Oral Sessions) The 71th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. September 19-21 2012, Sapporo.
 18. Uike N, Takamatsu A, Ikeda M, Choi I, Suehiro Y, Abe Y. Second primary cancers inpatients with hematologic malignancies in 30years at on institution. The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.
 19. Abe Y, Choi I, Ikeda M, Suehiro Y, Takamatsu A, Uike N. A single cencer experience of azacitidine for myelodysplastic syndrome. The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.

20. Suehiro Y, Yamaguchi S, Takamatsu A, Choi I, Abe Y, Asou N, Uike N. Second malignancies in familial AML with CEBPA mutation. The 74rd Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.
21. Choi I, Takamatsu A, Suehiro Y, Abe Y, Uike N. Two cases of primary breast diffuse large B cell lymphoma having only ocular lesion at relapse. The 74rd Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.
22. Tobinai K, Ando K, Niitsu N, Ogura M, S. J. Kim, Ohmachi K, Takahashi N, Uchida T, Takahashi N, Uike N, Y.S. Chae, H.S. Eom, Terauchi T, Tateishi U, Tatsumi M, C Suh, W.S. Kim, The Japanese and Korean Bendamustine Lymphoma Study Group. Phase II study of Bendamustine with rituximab® in relapsed/refractory DLBCL. The 74rd Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.
23. Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Hino M, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Cord blood transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma ; The JSHCT WG study. The 74rd Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.
24. Moriuchi Y, Fukushima T, Nomura S, Shimoyama M, Utsunomiya A, Shibata T, Tamura K, Ishitsuka K, Yoshida S, Uike N, Hata H, kawano F, Fukushima N, Uozumi K, Masuda M, Yamada Y, Kaba H, Watanabe Y, Fukuda H, Hotta T, Tobinai K, Tsukasaki K. An ancillary study for aggressive ATL by the Japan Clinical Oncology Group, JCOG0902A. The 74rd Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.
25. Kihara R, Kiyoi H, Kato T, Yamamoto E, Ohtake S, Miyawaki S, Miyazaki Y, Asou N, Sakura T, Ozawa Y, Usui N, Kanamori H, Kiguchi T, Imai K, Uike N, Kimura F, Kitamura K, Nakaseko C, Tsuboi K, Takeshita A, Ishida F, Suzushima H, Kato Y, Miwa H, Naoe T. Evaluation of the ELN genetic risk classification in AML patients registered to JALSG AML201 study. The 74rd Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 19-21 2012, Kyoto.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

CCR4 抗体治療がもたらす、ATL 患者における免疫病態変化の解明

研究分担者：石田 高司 名古屋市立大学 腫瘍・免疫内科学 准教授

研究要旨 ヒト化 CCR4 抗体（モガムリズマブ、ポテリジオ®）は世界に先駆け日本で2012年3月に再発再燃 ATL 患者に承認され、5月に発売開始された新規薬剤である。モガムリズマブは CCR4 を発現した腫瘍細胞のみならず、健全な制御性 T 細胞（Treg）を除去する作用を有する。Treg の存在は腫瘍細胞の宿主免疫応答回避に重要な役割を果たしており、モガムリズマブがもたらす Treg 除去は抗腫瘍免疫の増強につながることを期待されている。

分担研究者は、固形がんで免疫療法の標的となっているがん・精巢抗原が ATL で高頻度に発現しており、免疫療法の標的抗原となりうることを見出した。さらに、従来、病期が進行した ATL 患者では発現が限定的と考えられていた Tax は、末梢血ではなく、ATL 細胞の増殖の場（リンパ節）で高頻度とその発現を認め、ATL に対する免疫療法の標的抗原になりうることを見出した。これらの抗原に対する免疫反応はモガムリズマブ治療後の患者で強く認め、モガムリズマブによる Treg 除去の関与が強く示唆された。

今後、これら標的抗原に対する免疫療法の臨床開発、および同種造血幹細胞移植時におけるモガムリズマブの適正な使用法確立を目指す。

A. 研究目的

ヒト化 CCR4 抗体（モガムリズマブ、ポテリジオ®）は世界に先駆け日本で2012年3月に再発再燃 ATL 患者に承認され、5月に発売開始された新規薬剤である。モガムリズマブは CCR4 を発現した腫瘍細胞のみならず、健全な制御性 T 細胞（Treg）を除去する作用を有する。Treg の存在は腫瘍細胞の宿主免疫応答回避に重要な役割を果たしており、モガムリズマブがもたらす Treg 除去は抗腫瘍免疫の増強につながることを期待されている。これらモガムリズマブ抗体治療がもたらす、ATL 患者における免疫病態変化を解明し、ATL に対する新規細胞免疫療法を確立することが本研究の目的である。

B. 研究方法

KW-0761治療を受けた ATL 患者サンプルを用いて、治療前後の液性免疫反応、細胞性免疫反応を詳細に解析した。

（倫理面への配慮）

患者試料を用いた研究はヘルシンキ宣言を遵守し名古屋市立大学医学部倫理委員会における研究計画書の承認審査を得て、また遺伝子異常の検討は3省庁による『ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針』を遵守し名古屋市立大学医学部遺伝子倫理委員会における研究計画書の審査承認を得た上で試料提供者への十分な説明と文書による同意を得て行った。

動物を用いた研究は動物愛護の精神則り施設実験動物研究センターでの研究計画書の承認を得て行った。

C. 研究結果

モガムリズマブ投与前後の ATL 患者血清中の抗体反応の網羅的な解析・比較の結果、従来 ATL での発現は報告されていない複数の腫瘍抗原（がん精巢抗原、NY-ESO-1、MAGE-A3, 4）に対する抗体反応を検出した。また患者由来 ATL 細胞における該当腫瘍抗原の発現を mRNA およびタンパクレベルで確認することができ、該当腫瘍抗原特異的 CTL を誘導しえた。これら腫瘍抗原は

ATL に対する免疫療法の新規標的抗原になりうると考えられた (論文業績 1)。

ATL 患者 PBMC から HTLV-1 ウイルス抗原 Tax 特異的 CTL の誘導・増殖方法の最適条件を確立した。本手法を用いて誘導した Tax-CTL が自己の ATL 細胞を特異的に傷害することを確認した。これまで、病期が進行した ATL 患者では Tax の発現は限定的と考えられていたが、分担研究者は多くの症例において ATL 細胞の増殖の場 (リンパ節) では比較的高頻度に Tax の発現を認め、その発現は細胞周期に依存している事を見出した (論文業績 2)。

本邦における ATL の同種造血幹細胞移植成績をまとめ、骨髄非破壊的移植は骨髄破壊的移植と同程度に有効であり、治癒をもたらし得ることを改めて示した (論文業績 3)。

D. 考察

C で述べた腫瘍抗原特異的、あるいは Tax 特異的 CTL はモガムリズマブ治療後に寛解に至ったケースで高頻度に認め、さらに効率よく増幅可能であった。今後は同種造血幹細胞移植時におけるモガムリズマブの適切な使用方法の確立が急務である。

E. 結論

モガムリズマブは ATL 細胞に対する直接的な抗腫瘍効果を有するのみならず、Treg 除去による二次的な抗腫瘍免疫賦活による抗 ATL 効果を有することが示唆された。同種造血幹細胞移植後の使用では GVHD を惹起する可能性があり、適切な使用方法の確立が望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. *Nishikawa H, *Maeda Y, *Ishida T, Gnjjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S. Cancer/testis antigens are novel targets of immunother-

apy for adult T-cell leukemia/lymphoma. Blood. 2012;119:3097-104. (*equally contributed)

2. Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. Cancer Sci. 2012;103:1764-73.
3. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen : a nationwide retrospective study. Blood. 2012; 120:1734-41.
4. Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R. Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma : A Multicenter Phase II Study. J Clin Oncol, 2012;30: 837-42.
5. Mori F, Ishida T, Ito A, Sato F, Masaki A, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Potent antitumor effects of bevacizumab in a microenvironment-dependent human lymphoma mouse model. Blood Cancer J. 2012 Apr;2 (4):e67.
6. Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, Narita T, Masaki A, Ito A, Ding J, Kusumoto S, Ishida T,

Komatsu H, Shiotsu Y, Ueda R, Iwawaki T, Imoto M, Iida S. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. Blood Cancer J. 2012 Jul;2(7):e79.

7. Yamada S, Sato F, Xia H, Takino H, Kominato S, Ri M, Ishida T, Iida S, Inagaki H, Yamada K. Forkhead box P1 overexpression and its clinicopathologic significance in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. Hum Pathol. 2012; 43:1322-7.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

Multi-color FACSによる末梢血 ATL 細胞の評価

研究分担者：内丸 薫 東京大学医科学研究所附属病院血液腫瘍内科 准教授

研究要旨 我々が開発に当たって来た multi-color FACS を用いた HTLV-1 感染細胞/ATL 細胞解析システム (HTLV-1 analysis system : HAS) は造血細胞移植後症例の解析に使用できない問題点があったため、この点を解決するため ATL 細胞で高発現していることが報告されている TSLC1 (CADM1) を組み込んだ HAS を開発した。その結果この新しい解析システムでは移植後再発例であっても TSLC1 (+) /CD7 (-) の集団として ATL 細胞を明瞭に検出することが可能であった。この解析システムを用いて ATL に対する造血細胞移植後の腫瘍細胞、移植細胞の動態を早期から分析して行くことが可能になることが期待され、ひいては移植後患者の至適管理法の検討につながることを期待される。

A. 研究目的

我々が開発した急性型 ATL 症例の末梢血中の腫瘍細胞を同定するための multi-color FACS (HTLV-1 Analysis System : 以下 HAS) は、これまでの検討で移植後の症例の評価は困難であることが明らかになっている。そこで HTLV-1 感染細胞 (ATL細胞) に特異的なマーカーを組み込むことにより移植後の ATL 症例の末血中の ATL 細胞の評価が可能な系を構築する。

B. 研究方法

ATL 細胞特異的な解析系を確立するためこれまでの HAS に ATL で高発現している TSLC1 の発現を組み込むこととし、抗 TSLC1 抗体をビオチン化、ストレプトアビジン PE で検出する系を構築した。その他の蛍光抗体は APC-CD7、APC-Cy7-CD3、Pacific Blue-CD4、Pacific Orange-CD14を用いた。同種骨髄移植後14日から7年4ヶ月までの7例について解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針に則り東京大学医科学研究所倫理委員会の審査承認 (承認番号22-3,4-0518、24-34-1004) のもとに被験者から文書による説明と同意を得て遂行された。

C. 研究結果

これまでのCD3/7による HAS では同種骨髄移植後症例では正常 CD4 T 細胞においても CD7 の発現の低下がみられるため ATL 細胞と非腫瘍細胞の区別が不可能であったが、TSLC1 を組み込んだ今回の解析系では再発例においては TSLC1 (+) /CD7 (-) の集団として明瞭に ATL 細胞を同定することができた。一方非再発例ではこのような集団は見られなかった。移植後の症例では TSLC1 dim (+) の集団が有意に増加していた。この細胞は PCR で HBZ 領域の増幅が見られなかった。

D. 考察

今回開発した新しい HAS (2nd generation HAS : HAS 2G) は移植後の症例においても ATL 細胞を高感度、かつ特異的に同定することが可能と考えられる。HAS 2G により本研究班の臨床研究において同種移植を行った症例の経過をより正確に評価することが可能になり、再発早期例に対して免疫抑制剤の減量などの治療介入をより早期に開始できることが期待される。今後継続的に解析症例を増やして有用性の評価を行う予定である。移植後に増加している TSLC1 dim の細胞集団の解析により、移植後症例の免疫回復の過程につき新たな知見が得られることが期待される。

E. 結論

これまでの HAS に TSLC1を組み込んだ新しい解析系 (HAS 2G) は ATL に対する同種造血細胞移植後の腫瘍細胞のモニターに有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yuji K, Ishigaki T, Isobe M, Ohfuchi-Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A and Uchimaru K. The CD3 versus CD7 plot in multicolor flow cytometry reflects progression of disease stage in patients infected with HTLV-1. PLoS One 8:e53728, doi:10.1371/journal.pone.0053728, 2013

2. 学会発表

1. 小林誠一郎、中野和民、渡辺恵理、石垣知寛、大野伸広、渡辺信和、東條有伸、内丸薫：患者検体を用いた CD7と TSLC1/CADM1の FACS 解析は ATL の多段階発癌を反映する 第1回 ATL シンポジウム 2012 東京
2. 石垣知寛、小林誠一郎、大野伸広、渡辺恵理、田野崎隆二、渡辺信和、東條有伸、内丸薫：TSLC1/CD7 を用いた造血細胞移植後の ATL 細胞のモニタリング, 第5回 HTLV-1 研究会 2012 東京
3. 矢持忠徳、守田洋平、矢持淑子、佐々木陽介、渡辺信和、Sanaz Firouzi、内丸薫、宇都宮 與、渡邊俊樹：成人T細胞白血病における tumor initiating cell の探索の試み, 第5回 HTLV-1 研究会 2012 東京
4. 大野伸広、田野崎隆二、小林誠一郎、石垣知寛、渡辺信和、内丸薫：同種造血幹細胞移植を見据えた ATL の治療戦略：その後方視的解析 第5回 HTLV-1 研究会2011 東京
5. 笹島悟史、中野和民、内丸薫、渡邊俊樹：成人T細胞白血病 (ATL) における新規 TIAM 2 変異体の同定と遺伝子発現の解析, 第5回 HTLV-1 研究会 2012 東京
6. Yamagishi M, Takahashi R, Nakano K,

Asanuma S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, and Watanabe T: Molecular Hallmarks of Adult T cell Leukemia : miRNA, Epigenetics, and Emerging Signaling Abnormalities. 第74回日本血液学会学術集会 2012 京都

7. Kobayashi S, Watanabe E, Ishigaki T, Ohno N, Yuji K, Tsukada Y, Ohmoto A, Shimada N, Watanabe N, Tojo A and Uchimaru K : CD7 vsCADM1 in FACS reflects multi-step oncogenesis of ATL and discriminates HTLV-1 infected cells. 第74回日本血液学会学術集会 2012 京都
8. 石垣知寛、小林誠一郎、大野伸広、田野崎隆二、渡辺信和、内丸薫、東條有伸、中内啓光：Monitoring ATL cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with CADM1 and CD7.第74回日本血液学会学術集会 2012 京都
9. 大野伸広、小林誠一郎、渡辺信和、石垣知寛、湯地晃一郎、東條有伸、内丸薫：CD3と CD7 の展開による急性型 ATL 細胞の同定：治療後の CD3dimCD7 (-) 分画のクローナリティ解析第74回日本血液学会学術集会2012 京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし