

正幸、白阪琢磨：当院における HIV 関連リンパ腫についての検討。第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2010 年 11 月

#### H23 著述

Watanabe D, Taniguchi T, Otani N, Tominari S, Nishida N, Uehira T, Shirasaka T. : Immune reconstitution to parvovirus B19 and resolution of anemia in a patient treated with highly active antiretroviral therapy: A case report. J Infect Chemother 2011,17:283-287.

Watanabe D, Koizumi Y, Yajima K, Uehira T, Shirasaka T: Diagnosis and Treatment of AIDS-Related Primary Central Nervous Lymphoma, J Blood Disord Transfus 2011, S1-001

#### H23 口演

小泉祐介、廣田和之、米本仁史、坂東裕基、大寺博、矢嶋敬史郎、富成伸次郎、渡邊大、西田恭治、上平朝子、白阪琢磨：当院における非エイズ指標悪性腫瘍の臨床的検討。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月

上平朝子：エイズ関連悪性リンパ腫について。第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会 第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会「シンポジウム 1」、奈良、2011 年 11 月

#### H24 著述

Yotsumoto M, Hagiwara S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Nagai H, Fujikawa Y, Maeda S, Kitano K, Arima N, Uno K, Iwai T, Hongo I, Ota Y, Fukutake K, Okada S.:Clinical characteristics of human immunodeficiency virus-associated Hodgkin lymphoma patients in Japan. Int J Hematol. 2012 Aug;96(2):247-53.

#### H24 学会発表

小泉祐介、矢嶋敬史郎、渡邊大、児玉良典、上平朝子、大田泰徳、白阪琢磨 AIDS 関連 DLBCL の治療中に Plasmablastic lymphoma を合併し、BD 療法を施行した一例。第 74 回日本血液学会学術集会 2012 年 10 月 19-21 日 京都

小泉祐介、矢嶋敬史郎、渡邊大、児玉良典、上平朝子、大田泰徳、白阪琢磨 当科で経験した Plasmablastic lymphoma(PBL)の 3 例  
第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会 2012 年 11 月 24-26 日 横浜

## リンパ腫発症検出に関する血清学的検査法に関する研究

分担研究者 照井 康仁 がん研究会有明病院 血液腫瘍担当部長

**研究要旨** AIDS 患者のリンパ腫発症を早期に発見することは、診断後の治療効果を大きく改善することが可能であると考えられる。我々は平成 22 年度に、チロシンキナーゼ阻害剤 imatinib により誘導される HIV-suppressive modulator (Murabutide) 処理により CD8-depleted PBMNC で発現低下する遺伝子、TRIM68 を同定し、血清中抗 TRIM68 抗体検出 ELISA 法を確立した。本年度は、平成 22 年度に引き続き、各血液がん患者血清にて測定を施行した。その結果、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の CD22 陽性症例では陰性および弱陽性症例と比較して有意に高い抗体価を示すことが判明した。

### A. 研究目的

HAART 治療によるエイズ患者の延命により、エイズ関連リンパ腫は、年々増加傾向にある。HIV 関連リンパ腫の治療の問題点は、標準療法が存在せず、治療抵抗性であり、抗がん剤治療によって免疫能がさらに低下する可能性がありリンパ腫治療が成功しても感染死のリスクが高くなることで、予後の改善がみられないことである。

この問題点を解決するためには、リンパ腫診断を早期の段階で行い、より早い段階で治療を開始すれば、免疫能低下も回避できる。さらに、R-CHOP 療法などのリンパ腫治療の免疫系への影響を解析し、免疫系の干渉のより少ない治療法を開発することも必要である。すなわち、早期診断法の確立、予後を延長する治療法の開発は急務な課題である。

我々は、いままで、CD5 陽性びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) の難治性、CD20 遺伝子変異が関与したリツキシマブ抵抗性、HCV 感染リンパ腫患者のリツキシマブ投与後の HCV-RNA 量増加と IgG レベル低下、可溶性 IL-2 受容体レベルの R-CHOP 療法施行後の DLBCL の予後への影響、を報告してきた。

チロシンキナーゼ阻害剤イマチニブは EBV 関連リンパ腫に対するリツキシマブの抗腫瘍効果を減弱することが知られ、補体阻害系を可逆化し、補体依存性細胞障害作用を阻害することによってイマチニブはリツキシマブの抗腫瘍効果を減弱するが、NK 細胞への影響はないとされている。

このことより、イマチニブにより発現増強する遺伝子群の解析は意義があり、最近、我々はイマチニブ処理により誘導される TRIM68 遺伝子を同

定し、血清中抗 TRIM68 抗体検出 ELISA 法を確立した。

### B. 研究方法

TRIM68 遺伝子をクローニングし、無細胞系タンパク合成系ベクターに組み換え、TRIM68 タンパクを合成する。そのタンパクを 96 穴プレートに固相化し、同意取得した患者血清を添加する。96 穴プレートから血清を除去後、洗浄し、ヤギ抗ヒト抗体を添加する。TMB/E 液による発色を OD450nm にて吸光度測定をした。

#### (倫理面への配慮)

ヒト由来試料（血清等）を用いた研究はがん研究会倫理委員会の承認を受け、規則に従い実施している。

#### 1) 研究対象者に対する人権擁護上の配慮

研究に用いる血清等は、他の研究目的には使用しない。血清等は匿名処理を行うため、個人情報流出することはない。また、同意書に署名後も試料採取・使用までの期間に同意を撤回することを可能としている。

#### 2) 研究方法による研究対象者に対する利益・不利益

本研究により、直接提供者が医学上の利益・不利益を得ることはない。

#### 3) 危険性の排除

採血は、医師が問診した上で健康に問題ないと判断した場合に限り、検査技師が採血している。採血に伴う身体への危険性はありうるが、これは通常の診療行為を越えるものではない。一回の採取量は約 10ml であり、採血量は、本人の了解のもとに決定している。

#### 4) インフォームドコンセントに係わる状況

血液採取に関しては、がん研究会有明病院のスタッフ（医師）が本研究の趣旨を説明し、血液提供の同意を得られた方のみ同意書に署名していただいている。この際、説明を行った医師名を明記し、同意書はがん研究会において厳重に保管している。

### C. 研究結果

#### 1) TRIM68 遺伝子の同定と特徴

TRIM68 は RING finger タンパク 137 で、RING finger ドメインを N 末端に有し、SS-56 ともいわれる。分子量 56kDa で主に細胞質、核膜周辺に局在する。多くの組織で発現しているが、特に脾臓や肝臓で強発現している。RING finger タンパクは ubiquitin あるいは sumo E3 リガーゼ活性を有するが、我々の解析で、ubiquitinE3 リガーゼであることが判明した。現在、さらに、その基質の探索と結合タンパクの解析を行っている。

#### 2) 抗 TRIM68 抗体検出 ELISA 法の確立

無細胞系タンパク合成系ベクターに組み換え、TRIM68 タンパクを合成した。TRIM68 タンパクを 96 穴プレートに固相化し、既存の抗 TRIM68 抗体を各濃度で添加した。96 穴プレートから血清を除去後、洗浄し、ウサギ抗マウス抗体を添加する。TMB/E 液による発色を OD450nm にて吸光度測定をし、検量線を作製した。

3) 各種血液がんにおける血清抗 TRIM68 抗体の血液がん患者 587 名の血清を解析し、他のパラメーターとの相関を解析した。疾患の内訳は DLBCL 259 例、MALT 29 例、FL123 例、MCL 16 例、BL 2 例、CLL/SLL 6 例、ALL6 例、HL 35 例、AITL 6 例、MM 45 例、ALCL 5 例、NK/T 14 例、PTCL 11 例、ATLL 4 例、AML 17 例、MDS 7 例、PV 2 例であった。

血清抗 TRIM68 抗体の正常人の吸光度平均値は 0.47 であったので、0.5 以上の割合を疾患別にみると、それぞれ、DLBCL 52%、MALT 62%、FL 37%、MCL 50%、BL 0%、CLL/SLL1 33%、AML 76%、HL 69%、AITL 50%、MM 47%、ALCL 80%、NK/T 43%、PTCL 56%、ALL33%、AML 76%、CML 50%、ATL 50%、MDS 71%、PV 0%であった。DLBCL では病期に関係なく平均値が同等であったが、抗 TRIM68 抗体 0.4 未満と 0.4 以上で層別化すると 0.4 以上で病期 III/IV の割合が高かった。

DLBCL における免疫染色および細胞表面マーカー(CD5、CD10、CD19、CD20、 $\kappa$ 、CD22、 $\kappa$ 、 $\lambda$ 、BCL2、BCL6、MIB1、MUM1、CD23、PAX5、LMP1)との関係を解析すると、CD5、CD10、CD19、CD20、 $\kappa$ 、 $\lambda$ 、BCL2、BCL6、MIB1、MUM1、CD23、PAX5、LMP1 では有意差がみとめられなかつ

たが、CD22 に関しては、0.47 対 0.69 ( $p=0.009858$ ) と陽性症例では陰性および弱陽性症例と比較して有意に高い抗体価を示すことが判明した。

#### 4) DLBCL における CD22 発現と各種パラメーターとの相関

DLBCL における CD22 陽性例と陰性例の各種パラメーターである白血球数、ヘモグロビン値、血小板数、LDH、sIL-2R、血清  $\beta$ 2MG 値との相関を解析した。白血球数、ヘモグロビン値、血小板数、LDH は CD22 陽性例と陰性例で有意差がみとめられなかったが、血清  $\beta$ 2MG 値では 1.40mg/l 対 2.37mg/l ( $p=0.003$ )、sIL-2R では 566U/ml 対 1882.6U/ml ( $p=0.018$ ) と CD22 陽性症例では CD22 陰性および弱陽性症例と比較して有意に高値を示すことが判明した。

### D. 考察

血清抗 TRIM68 抗体は血液がん幅広く検出される可能性が高い。

リンパ系腫瘍に特異的であるとは限定できないが、DLBCL の解析から CD22 のファミリーである Siglec ファミリーを発現している腫瘍に関連している可能性がある。

今回の解析では、白血球数、ヘモグロビン値、血小板数、LDH、とは相関しないが、CD22 の発現は血清  $\beta$ 2MG 値 sIL-2R と相関しており、抗 TRIM68 抗体値と CD22 の発現、血清  $\beta$ 2MG 値、sIL-2R との関係が示唆される。

### E. 結論

TRIM68 の同定により、CD22 などの Siglec ファミリーを発現した腫瘍において血清抗 TRIM68 抗体の検出が早期診断に応用できる可能性が示唆された。HIV 関連リンパ腫における Sigelec ファミリーの発現解析と血清抗 TRIM68 抗体値の関係を解析する必要があると考えられた。

### F. 健康危機情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Kobayashi T, Kuroda J, Ashihara E, Oomizu S, Terui Y, Taniyama A, Adachi S, Takagi T, Yamamoto M, Sasaki N, Horiike S, Hatake K, Yamauchi A, Hirashima M, Taniwaki M. Galectin-9 exhibits anti-myeloma activity through JNK and p38 MAP kinase pathways. *Leukemia* 24(4):843-50, 2010.
- 2) Matsusaka S, Chin K, Ogura M, Suenaga M, Shinozaki E, Mishima Y, Terui Y, Mizunuma N, Hatake K. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining response to chemotherapy in patients with

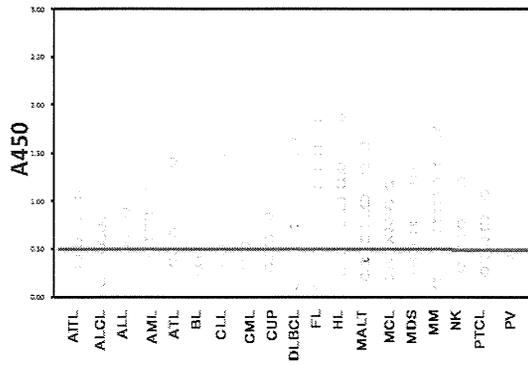
- advanced gastric cancer. *Cancer Sci* 101(4):1067-71,2010.
- 3) Ogura M, Tobinai K, Hatake K, Uchida T, Kasai M, Oyama T, Suzuki T, Kobayashi Y, Watanabe T, Azuma T, Mori M, Terui Y, Yokoyama M, Mishima Y, Takahashi S, Ono C, Ohata J. Phase I study of inotuzumab ozogamicin (CMC-544) in Japanese patients with follicular lymphoma pretreated with rituximab-based therapy. *Cancer Sci*. 101(8):1840-1845, 2010.
  - 4) Ueda K, Yokoyama M, Asai H, Koudaira M, Yamada S, Katsube A, Mishima Y, Sakajiri S, Takeuchi K, Saotome T, Terui Y, Takahashi S, Hatake K. Efficacy of CHOP+/-Rituximab-like therapy plus radiation therapy for patients with diffuse large B-cell lymphoma stage I. *Gan To Kagaku Ryoho* 37(5):853-7, 2010.
  - 5) Asai H, Yokoyama M, Terui Y, Ennishi D, Takeuchi K, Hatake K. Is statin use really associated with efficacy of rituximab? *J Clin Oncol* 20;28(24):e424-5; author reply e427-8,2010.
  - 6) Ohmachi K, Ando K, Ogura M, Uchida T, Itoh K, Kubota N, Ishizawa K, Yamamoto J, Watanabe T, Uike N, Choi I, Terui Y, Usuki K, Nagai H, Uoshima N, Tobinai K; The Japanese Bendamustine Lymphoma Study Group. Multicenter phase II study of bendamustine for relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma. *Cancer Sci*. 101(9): 2059-64, 2010.
  - 7) Takeuchi K, Yokoyama M, Ishizawa S, Terui Y, Nomura K, Marutsuka K, Nunomura M, Fukushima N, Yagyu T, Nakamine H, Akiyama F, Hoshi K, Matsue K, Hatake K, Oshimi K. Lymphomatoid Gastropathy: A Distinct Clinicopathological Entity of Self-limited Pseudomalignant NK-cell Proliferation. *Blood* 116 (25): 5631-5637, 2010.
  - 8) Nishimori H, Takahashi S, Kiura K, Ennishi D, Kobayashi T, Sano K, Shinozaki E, Yokoyama M, Mishima Y, Terui Y, Chin K, Mizunuma N, Ito Y, Nishimura S, Takeuchi K, Ishikawa Y, Oguchi M, Tanimoto M, Hatake K. Cancer of unknown primary site: a review of 28 cases and the efficacy of cisplatin/docetaxel therapy at a single institute in Japan. *Acta Med Okayama*. 2010 Oct;64(5):285-91.
  - 9) Matsusaka S, Suenaga M, Mishima Y, Takagi K, Terui Y, Mizunuma N, Hatake K. Circulating endothelial cells predict for response to bevacizumab-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 68(3):763-8. 2011.
  - 10) Matsusaka S, Suenaga M, Mishima Y, Kuniyoshi R, Takagi K, Terui Y, Mizunuma N, Hatake K. Circulating Tumor Cells as Surrogate Marker for Determining Response to Chemotherapy in Japanese Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Cancer Sci*.10: 1349-7006.2011.
  - 11) Matsusaka S, Mishima Y, Suenaga M, Terui Y, Kuniyoshi R, Mizunuma N, Hatake K. Circulating endothelial progenitors and CXCR4-positive circulating endothelial cells are predictive markers for bevacizumab. *Cancer*. 117(17):4026-32, 2012.
  - 12) Suzuki K, Terui Y, Nakano K, Nara E, Nasu K, Ueda K, Nishimura N, Mishima Y, Sakajiri S, Yokoyama M, Takahashi S, Hatake K. High thymidine kinase activity is a strong predictive factor for poor prognosis in PTCLs treated by CHOP. *Leuk Lymphoma*. 53(5):849-54, 2012.
  - 13) Nishimura N, Nakano K, Ueda K, Kodaira M, Yamada S, Mishima Y, Yokoyama M, Terui Y, Takahashi S, Hatake K. Prospective evaluation of incidence and severity of oral mucositis induced by conventional chemotherapy in solid tumors and malignant lymphomas. *Support Care Cancer* 20(9):2053-9, 2012.
  - 14) Mishima Y, Terui Y, Mishima Y, Kuniyoshi R, Matsusaka S, Mikuniya M, Kojima K, Hatake K. High reproducible ADCC analysis revealed a competitive relation between ADCC and CDC and differences between FcγRIIIa polymorphism. *Int Immunol*. 24(8):477-83, 2012.
  - 15) Ogura M, Tobinai K, Hatake K, Uchida T, Suzuki T, Kobayashi Y, Mori M, Terui Y, Yokoyama M, Hotta T. Phase I study of obinutuzumab (GA101) in Japanese patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci*. 2012
  - 16) Suzuki K, Terui Y, Nishimura N, Mishima Y, Sakajiri S, Yokoyama M, Takahashi S, Tsuyama N, Takeuchi K, Hatake K. Prognostic Value of C-reactive Protein, Lactase Dehydrogenase and Anemia in Recurrent or Refractory Aggressive Lymphoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2012
  - 17) Mishima Y, Terui Y, Yokoyama M, Nishimura N, Sakajiri S, Ueda K, Kuboki Y, Nakano K, Suzuki K, Nara E, Tsuyama N, Takeuchi K, Oguchi M, Hatake K. R-CHOP with dose- attenuated radiation therapy could induce good prognosis in gastric diffuse large B cell lymphoma. *Exp Hematol Oncol*. 2012
  - 18) 照井康仁 ろほう性リンパ腫における Anti-idiotypic vaccine の有効性 *Pharma Medica* 28(1) 47-52、2010
  - 19) 照井康仁 ボルテゾミブ 薬理作用と治療の実際 *薬局* 61(2) 54-61、2010
  - 20) 照井康仁 リツキシマブの耐性化機序：CD20 遺伝子変異による CD20 陰性化 *血液・腫瘍科* 60(1) 30-35、2010
  - 21) 照井康仁 再発・治療抵抗性びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 *血液フロンティア* 20(2) 29-36、2010
  - 22) 照井康仁 CD22 の基礎と臨床 *病理技術* 73(2) 70-72、2010
  - 23) 照井康仁 第 8 回日本臨床腫瘍学会学術集会 (JSMO) がん分子標的治療 8(3) 77-80、2010
  - 24) 照井康仁 リツキシマブ以外の抗体療法の展望 (抗癌剤抱合抗体・RI 標識抗体を含めて) *Pharma Medica* 28(9) 33-38、2010
  - 25) 照井康仁 悪性リンパ腫 疾患別分子標的薬治療の現状と今後の展望 *日本臨床* 68(10) 1881-1888, 2010
  - 26) 照井康仁 リンパ芽球性リンパ腫 IV 造血系・リンパ系疾患 *血液疾患 最新の治療* 2011-2013 南江堂 208-213、2010
  - 27) 照井康仁 抗 CD22 抗体医薬：inotuzumab ozogamicin 悪性リンパ腫 *Update 医学のあゆみ* 235(5) 577-581、2010
  - 28) 照井康仁、那須健太郎 ASCO 報告：血液腫瘍領域分子標的治療の動向-ASCO 2010 から- *がん分子標的治療* 8(4) 40-47、2010
  - 29) 照井康仁 副作用対策におけるチーム医療の意義

- 分子標的治療薬の副作用のマネジメント 弦間昭彦  
編集 南江堂 15-22、2011
- 30) 照井康仁 2. ホジキンリンパ腫治療の最近の進歩  
Annual Review 血液 2011 中外医学社 129-136、  
2011
- 31) 照井康仁 血液腫瘍治療薬 新薬展望 2011 医薬ジ  
ャーナル 197-202、2011
- 32) 照井康仁 リツキシマブは B 細胞受容体シグナルを  
抑制する 血液内科 62(2) 226-230、2011
- 33) 照井康仁 CHAPTER6 悪性リンパ腫 —悪性リンパ  
腫 化学療法選択の原則— 外来癌化学療法クリニ  
カルパス事例集 メディカルレビュー社 180-184、  
2011
- 34) 照井康仁 CHAPTER7 白血病 —白血病 化学療法  
選択の原則— 外来癌化学療法クリニカルパス事例  
集 メディカルレビュー社 204-205、2011
- 35) 照井康仁 CHAPTER8 多発性骨髄腫 —多発性骨髄  
腫 化学療法選択の原則— 外来癌化学療法クリニ  
カルパス事例集 メディカルレビュー社 221-222、  
2011
- 36) 照井康仁 2. 治療関連合併症・悪性腫瘍 IV. 予  
後と病診連携 日本内科学会雑誌 第 100 巻 第 7  
号 1909-1916、2011
- 37) 照井康仁 外来化学療法の運営 第 73 回日本血液学  
会学術集会 教育講演 S-4 基本シリーズ 臨床血液  
第 52 巻 第 10 号 56-61、2011
- 38) 照井康仁 mTOR 阻害剤 Around Hematological  
Malignancies Trends in Hematological Malignancies  
4(1) 39-41、2012
- 39) 照井康仁 抗体療法 III. 造血器腫瘍の診断と治療  
治療法 造血器腫瘍学-基礎と臨床の最新研究動向-  
日本臨床 70 巻 増刊号 2 217-221、2012
- 40) 照井康仁 4. 新規抗がん剤 (ベンダムスチン、ペグ  
化リポソーマルドキソルビシン) D. 新規治療薬 第  
III 章多発性骨髄腫の治療手段 多発性骨髄腫マニュ  
アル 159-166、2012 南江堂
- 41) 照井康仁 分子標的薬による血液毒性とその対策  
臨床外科 67 (7) 878-881、2012
- 42) 照井康仁 多発性骨髄腫 成人病と生活習慣病 42  
(6) 749-753、2012
- 43) 照井康仁 : ibritumomab tiuxetan (90Y 標識マウス型  
CD20mb) エビデンスに基づいた癌化学療法ハンド  
ブック 2012 有吉寛監修 メディカルレビュー社、  
607-610、2012
- 44) 照井康仁 リンパ腫に対する新規薬剤開発 内科  
110 (2) 257-262、2012
- 45) 照井康仁 悪性リンパ腫における可溶性 IL-2 受容体  
測定の意義 Medical Practice 29(8) 1314-1315、2012
- 46) 照井康仁 濾胞性リンパ腫に対するリツキシマブ維  
持療法と再発・進行時の再治療の比較：リツキシマブ  
による維持療法の意義 血液内科 65(3) 442-447、  
2012
- 47) 照井康仁 MLN9708 とその他の新規プロテアソーム  
阻害剤 多発性骨髄腫-現状と進歩 医学のあゆみ  
242 (13) 1152-1156、2012
- 48) 照井康仁 第 19 節 造血障害 (骨髄異型性症候群)  
第一章がん化学療法 (殺細胞剤) における副作用の疫  
学データと発現機序、診断・治療の現状 副作用軽減  
化 新薬開発 技術情報協会出版 138-140、2012
- 49) 照井康仁 CD20 I I 基礎研究 分子標的薬の  
作用機序・薬理作用 免疫炎症関連標的分子・標的経  
路 分子標的薬—がんから他疾患までの治療をめ  
ざして— 日本臨床 70 (8) 170-175、2012
- 50) 照井康仁 1. 発熱性好中球減少章 (FN) 診療ガイ  
ドライン 特集 2 血液疾患診療のためのガイドライ  
ン〜発熱性好中球減少症ならびに造血細胞移植後早  
期の感染管理〜 血液フロンティア 22(12) 83-92、  
2012

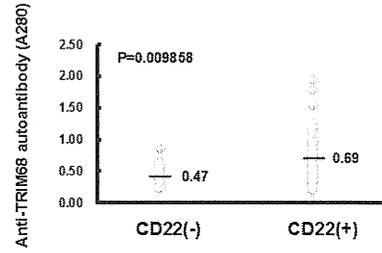
#### H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

### 血液がんにおける抗TRIM6自己抗体

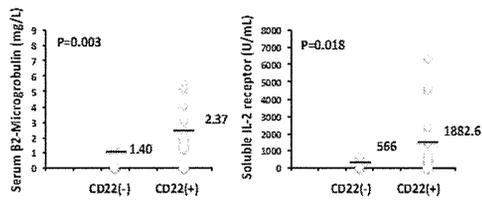


### CD22 expression and anti-TRIM68 autoantibody



• CD5, CD10, CD19, CD20, kappa, Lamda, BCL2, BCL6, MIB1, MUM1, CD23, PAX5, and LMP1 did not show any significant relationship to anti-TRIM68 autoantibody.

### Relationship between CD22 expression and Serum $\beta$ 2-Microglobulin or Soluble IL-2 receptor



## エイズリンパ腫における miRNA の発現異常と シグナル伝達系の解析

分担研究者 渡邊 俊樹 東京大学大学院新領域創成科学研究科  
メディカルゲノム専攻病態医療科学分野 教授  
研究協力者： 山岸 誠（東京大学大学院新領域科学研究科  
メディカルゲノム専攻病態医療科学分野）  
片野晴隆（国立感染症研究所感染病理部）  
大田泰徳（虎の門病院病理部）  
比島恒和（東京都立駒込病院病理科）

**研究要旨** エイズリンパ腫の分子病態と発症危険因子の決定に最も有効な方法は、実際の臨床検体を用いた系統的な解析である。エイズ合併リンパ腫検体由来 RNA と正常扁桃 RNA について、miRNA の網羅的な発現解析を行った結果、エイズリンパ腫に特異的な miRNA の異常を明らかにすることができた。特に、固形癌で重要な癌抑制性 miRNA である miR-200 ファミリーがリンパ腫において著しく減少していることがわかった。

miR-200 ファミリーの発現抑制の分子メカニズムと機能的意義について検討した結果、miR-200 ファミリーはエピジェネティックな異常によって転写が抑制されていることがわかった。また機能面では、miR-200 ファミリーの新標的遺伝子を複数同定し、miRNA の低下が BCR シグナルの慢性的な活性化に寄与していることを明らかにした。さらに miR-200 ファミリーの発現抑制に関わる EZH2 の発現が BCR シグナルによって誘導されており、BCR、miR-200、Polycomb による feed-forward loop がリンパ腫細胞の生存に重要であることを明らかにした。

### A. 研究目的

HIV 感染者はエイズ発症期に、ニューモシスチス肺炎やサイトメガロウイルスなどの日和見感染症の他にカポジ肉腫、リンパ腫などの悪性腫瘍を合併する。近年の Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART) の導入により、多くの日和見感染症は減少する傾向にあるが、カポジ肉腫、リンパ腫は逆に発症率としては増加傾向にある。エイズ合併リンパ腫 (AIDS-related lymphoma, ARL) は一般に進行が早く、コントロールが困難で致死率も高い。HIV 感染者の 5~20% の例でエイズ合併リンパ腫を発症するとされ、3-4% においてはその発症が AIDS の診断につながっている (Little et al., JAMA 2001;285,1880)。HAART の導入後 ARL の発症は減少しているが、最も減少したのは中枢神経原発のリンパ腫である。ARL は依然としてエイズ患者の予後を左右する重大な合併症であり、その治療法の開発、及び発症危険因子の探索は急務である。

我々はこれまでに、NF- $\kappa$ B の特異的阻害剤である DHMEQ を用いて、LCL および PEL 細胞株における NF- $\kappa$ B 活性抑制効果および細胞死誘導能を報告してきた。また種々の PKC 阻害剤を用いた実験を行い、NF- $\kappa$ B pathway の重要性を見いだした。さらに、癌細胞で発現異常を示し、発癌および悪性化に深く関わっている microRNA について特に注目し、ATL 細胞における miRNA の発現減少と NF- $\kappa$ B 経路の活性化メカニズムを明らかにした (Yamagishi et al., Cancer Cell, 2012)。

miRNA は 21-23mer の小さな RNA で、様々な遺伝子の 3'UTR に結合し、遺伝子発現を負に制御する機能性 RNA であるが、標的配列の揺らぎが存在するため、一つの miRNA が様々な遺伝子の発現を制御する非常にインパクトの大きい細胞性因子として研究が急速に進んでいる。miRNA の発現異常は、細胞内の遺伝子発現の攪乱を引き起こし、腫瘍化あるいは悪性化と強く結びついている。これらの背景からもエイズリンパ腫における

miRNA の解析は必須であると考えられた。

本研究では、都立駒込病院及び国立感染症研究所で凍結保存されているエイズ合併リンパ腫検体を用いて miRNA の発現異常の実態を明らかにするため、miRNA の網羅的発現解析を行い、さらにそこから明らかとなった分子異常の詳細な解析を行うことで、エイズリンパ腫における分子病態の新たな知見を得ることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. エイズリンパ腫サンプルを用いた microRNA (miRNA) の発現解析

エイズリンパ腫検体、及び正常リンパ節標本は、東京大学医科学研究所及び国立感染症研究所のヒトゲノム倫理審査委員会に申請し、承認を得た後に解析を行った。エイズリンパ腫検体、及び正常リンパ節より抽出した total RNA を用いて、注目する miRNA に特異的な定量的 RT-PCR を行った(miRNA Assays, Applied Biosystems)。miRNA の網羅的解析には、Human miRNA microarray kit v2 (Agilent Technologies)を用いてデータを取得し、GeneSpring GX(トミーデジタルバイオ)によってクラスター解析を行った。

### 2. リンパ腫で異常を示す miRNA の機能解析

各 miRNA の機能を解析するために、目的の miRNA や shRNA を発現するレンチウイルスベクターの作成を行った。ウイルスベクターは理化学研究所バイオリソースセンター三好浩之教授が開発した系を利用した。miRNA の標的遺伝子の同定は、Targetscan による予測を行ったのち、3'UTR を luciferase につなげたレポーターアッセイにより検証を行った。また各 miRNA を過剰発現させた細胞を用いて RT-PCR 及び Western blot により検討した。さらに miRNA によって制御されているかを確認する為に、Ago2 の免疫沈降法により miRNA-mRNA の複合体の検討を行った。

細胞に与える影響については Flow cytometer による解析、及び WST-8 アッセイにより検討した。

### 3. メチル化 DNA の検出及びヒストン修飾の解析

エイズリンパ腫検体及び各種細胞株からゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト法により、各 miRNA のプロモーター領域のメチル化を解析した。またヒストン H3K27 のメチル化については ChIP アッセイによって検討した。さらに DNA メチル化の阻害剤として 5-AzaC、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤として TSA、Polycomb による抑制の阻害剤として DZNep を用いた再活性化実験を行った。

## 4. B 細胞のシグナルについての検討

BCR からのシグナルの活性化には  $\alpha$ -IgM を用いて活性化を行った。また阻害剤には、SYK の阻害剤として Dasatinib、Fostamatinib を、PKC $\beta$  の阻害剤として Enzastaurin を、IKK $\beta$  の阻害剤として BMS-345541 を用いた。また shRNA によるノックダウンによる検討も行った。

B 細胞活性化の指標としては CD25、CD83 などの遺伝子発現レベル、また NF- $\kappa$ B シグナルレベルを指標とした。

## C. 研究結果

### 1. B 細胞リンパ腫における miR-31 の機能解析

miR-31 の発現レベルは様々な遺伝子制御を介して細胞の運命決定に強く影響する(Valastyan et al., Cell, 2009; Yamagishi et al., Cancer Cell, 2012)。まず B 細胞リンパ腫を含む様々なリンパ球系細胞株及び正常 T、B リンパ球細胞を用いて miR-31 の発現レベルの比較を行った。その結果、miR-31 の発現は T 細胞に比べて B 細胞では定常状態で発現量が低く、さらに不死化、腫瘍化した B 細胞株ではさらに低値を示した。特に NF- $\kappa$ B 経路の恒常的活性化が見られる Activated B cell like (ABC)-DLBCL や Primary effusion lymphoma (PEL) 細胞では miR-31 レベルが低く、NIK を介した NF- $\kappa$ B 経路の活性化や RhoA シグナルの存在が示唆された。エイズリンパ腫検体を用いた Real-time PCR 解析でも、正常扁桃と比較して、エイズリンパ腫では miR-31 の発現が著しい低値を示すことがわかった。以上より、T 細胞リンパ腫だけでなく、B 細胞リンパ腫においても miR-31 の発現が低下することがわかった。

次に miR-31 の B 細胞における機能を調べるために、miR-31 の発現の誘導、もしくは miR-31 の発現に対して負に寄与する EZH2 のノックダウンするレンチウイルスを用いた実験を行った。その結果、DLBCL 由来細胞株、PEL 由来細胞株のいずれもアポトーシスが誘導されることがわかった。特に Polycomb のノックダウンによるアポトーシスが顕著であり、Polycomb によるエピジェネティックな異常がリンパ腫細胞の生存に寄与していることが示唆された。

### 2. エイズリンパ腫検体を用いた miRNA の網羅的発現解析

これまでの知見から、B 細胞由来リンパ腫は、エピジェネティックな異常があることがわかっている。とくに EZH2 や BMI1 などの Polycomb ファミリーの発現異常に伴うエピジェネティック異常は腫瘍細胞の生存や増殖にとって重要である。また Polycomb 因子の遺伝子変異も報告されてお

り、エイズリンパ腫においても重要な発症危険因子の候補として期待される。上記の miR-31 は Polycomb によって抑制される miRNA であること、また PEL 細胞が Polycomb のノックダウンによって非常に強いアポトーシスが誘導されることから、B 細胞リンパ腫において Polycomb 依存的な miRNA の脱制御が考えられた。

以上のことを踏まえて、miRNA の発現レベルを網羅的に解析することによって、エイズリンパ腫における分子病態を明らかにすることにした。特にエイズに合併するリンパ腫の特徴をつかむために、エイズと非エイズにおける比較も行った。エイズリンパ腫 8 例、EBV 陰性 DLBCL 5 例、正常扁桃 8 例、正常末梢血 B 細胞 3 例について、Bioanalyzer によって small RNA fraction の質をチェックした後、miRNA microarray を行った。その結果エイズリンパ腫細胞では正常扁桃と比較して 115 種類の miRNA の発現が増加しており、そのうち 99 種類が非エイズと重複、16 種類がユニークな miRNA 発現上昇であった。逆に、108 種類の miRNA が発現減少しており、そのうち 18 種類がユニークな発現減少であった。

エイズリンパ腫においてのみ見つかった異常 miRNA は、機能を検討されていないものが多く、悪性度の高いエイズリンパ腫の特性を説明できる可能性があると考えられた。

一方でエイズと非エイズで共通して見つかった異常は、そのほとんどがエイズリンパ腫の方がその異常度が顕著であり、エイズリンパ腫において miRNA の発現異常が重要な因子であることも推察された。

発現異常のある miRNA ( $p < 0.01$ ) でクラスター解析を行うと、エイズリンパ腫と非エイズリンパ腫が別のクラスターに属することがわかり、エイズの合併によりユニークな miRNA の発現を示す事もエイズリンパ腫の特徴であると考えられた。

### 3. B 細胞リンパ腫における miR-200 ファミリーの発現低下

上記のクラスターについて詳細に解析を進めた結果、リンパ腫において miR-200 ファミリーの発現が顕著に低下していることがわかった。miR-200 ファミリーはシード配列の類似性によって、miR-200b, miR-200c, miR-429 と miR-200a, miR-141 の二つのサブファミリーに分けられ、標的遺伝子も共通していることが多い。これらは特に固形癌で研究が進んでいる癌抑制性 miRNA で、標的遺伝子としては、*ZEB1*, *ZEB2*, *SUZ12*, *BM11*, *JAG1*,  *$\beta$ -catenin* などがある。特に *ZEB1*, *ZEB2* は自身の 3'UTR に非常に多くの miR-200 結合配列を保持しているため、miR-200 の発現レベルと強い

逆相関を示す。上皮系の細胞における miR-200 の発現低下は、*ZEB1*, *ZEB2* の発現上昇を誘導し、その結果、E-cadherin の発現が低下することによって間葉系にシフトする(上皮間葉転換, Epithelial to Mesenchymal Transition, EMT)。がん細胞の転移や浸潤、幹細胞性において EMT は非常に重要なプロセスであり、miR-200 はその master regulator として注目を集めている。

また miR-200 ファミリーと同様の挙動を示した miR-203 と miR-205 もやはりリンパ腫細胞で低下していた。miR-203 は Ph<sup>+</sup> の慢性骨髄性白血病 (CML) 及び急性リンパ球性白血病 (B-ALL) で発現が低下し、その結果 *BCR-ABL* および *ABL1* の発現を上昇させる、癌抑制性 miRNA である。

リンパ腫研究において、それぞれ単独の発現異常がアレイ解析の結果として示されることもあるが、本研究の様にファミリーで共通して減少しているという発見は未だに無い。ファミリーで著しく減少している事実は、結果の確からしさを示すと共に、リンパ腫における生物学的意義についても示唆された。

### 4. miR-200 ファミリーの発現低下の分子メカニズムの解析

miR-200 ファミリーは miR-200b-200a-429 と miR-200c-141 の二つの Polycistronic RNA として転写されること、それぞれの転写開始点近傍には多重の CpG アイランドがあり、DNA のメチル化とクロマチン制御によって転写レベルで制御される。また miR-203 は CML や Ph(+)-B-ALL では DNA のメチル化によって miR-203 の発現が抑制されている。そこで B 細胞リンパ腫における DNA のメチル化を明らかにするために、エイズリンパ腫検体 6 例、正常末梢血 B 細胞、DLBCL 細胞株についてバイサルファイト法を用いてメチル化 DNA の検出を行った。その結果、miR-200a 及び 200b については正常 B 細胞でもメチル化が導入されており、成熟 B 細胞では発現が低いことが分かった。miR-200c は DNA のメチル化が誘導されているが、正常細胞では発現が高いことが分かった。また miR-203 については正常 B 細胞ではメチル化されておらず、リンパ腫検体及びリンパ腫細胞株ではメチル化が蓄積されており、これにより転写が抑制されていることがわかった。実際にリンパ腫細胞株に対して DNA メチル化阻害剤 5-Aza C により発現をレスキューできることがわかった。阻害剤による再活性化実験において、miR-200c の発現を亢進させたのが、Polycomb ファミリー EZH2 の阻害剤である DZNep であった。そこで ChIP アッセイによりヒストン H3K27me3 レベルを定量した結果、miR-200c が発現減少しているリ

リンパ腫細胞株において miR-200c のプロモーター領域に蓄積していることがわかった。

### 5. miR-200 ファミリー、miR-203、miR-31 の新規標的遺伝子の同定

B 細胞における miR-200 ファミリー、miR-203、miR-31 の機能を明らかにするために、まず B 細胞において重要な因子がこれらの miRNA によって標的となるか検索を行った。特に B 細胞受容体 (BCR) シグナルの活性化がリンパ腫細胞の増殖や生存に重要であることが多数報告されている。TargetScan 標的予測アルゴリズムを用いて miRNA の標的遺伝子を予測した結果、BCR シグナルの中核に位置する *CD79B*、*SYK*、*PLCG1*、*PKCβ*、*IKKβ* という遺伝子が miR-200c、miR-203、miR-31 の標的遺伝子であることが示唆された。そこでこれらの遺伝子の 3'UTR を搭載した luciferase レポーターアッセイ系を構築し、各 miRNA によって抑制されるかを検討した。さらにレンチウイルスベクターを用いて各 miRNA を過剰発現する DLBCL 細胞株を作成し、RT-PCR 及び Western blot によって標的遺伝子候補の定量を行った。その結果、miR-200b 及び miR-200c の新規標的遺伝子として *PLCG1*、*PKCβ*、*IKKβ*、miR-203 の新規標的遺伝子として *SYK*、*PKCβ*、miR-31 の新規標的遺伝子として *CD79B*、*PKCβ* を同定することに成功した。

### 6. リンパ腫細胞における miR-200c、-203、-31 の発現減少の意義

BCR シグナルの慢性的な活性化は NF-κB などのシグナル伝達系を介して細胞の増殖や生存に寄与する。そこでリンパ腫細胞で見られる miR-200c、-203、-31 の発現減少が上記の遺伝子の発現増加を介して BCR シグナルの活性化に寄与しているかを検討する為に、miRNA の発現を誘導するレンチウイルスを様々な DLBCL 細胞株に導入し、その効果を検討したところ、miR-200c、miR-203 及び miR-31 の発現誘導により細胞の増殖が低下し、アポトーシスを誘導することがわかった。これらの細胞では NF-κB の活性レベルが低下していることも確認された。

### 7. B 細胞リンパ腫における EZH2 の発現制御機構の解析

miR-200 ファミリーの抑制に関わる Polycomb の中心的酵素である EZH2 は、DLBCL、Burkitt リンパ腫などで過剰発現しており、予後との相関も示されている。また Germinal center 型 DLBCL (GCB-DLBCL) や濾胞性リンパ腫では EZH2 の gain-of-function mutation が報告されており、リンパ腫細胞では Polycomb によるエピジェネティッ

クな異常が腫瘍細胞の背景にある。多くのがんで見られる EZH2 の過剰発現は、主に転写レベルで活性化されていることが原因であるが、様々な転写因子によって複雑に制御されることが示されており、リンパ腫における過剰発現の実態は不明である。

EZH2 のプロモーター領域を検索した結果、NF-κB 結合配列があることが分かった。そこで BCR シグナルの活性化が EZH2 の発現誘導に関わっているかを検討する為に、まず正常 B 細胞を PBMC から磁気ビーズで濃縮し、抗 IgM 抗体を用いて BCR シグナルの活性化を誘導した。その結果 EZH2 の発現が著しく誘導されることが分かった。そこで BCR シグナルの枢軸である *CD79B*、*SYK*、*PKCβ*、*IKKβ* に対する shRNA を設計しノックダウンによって DLBCL 細胞株の BCR シグナルの低下を誘導した。その結果 DLBCL 細胞株のアポトーシスが誘導され、その時 EZH2 の発現が著しく低下することがわかった。さらに *CD79B*、*SYK*、*PKCβ*、*IKKβ* を抑制する miR-200 ファミリーの発現誘導によっても EZH2 の発現が低下することがわかった。

さらに miR-200c と Polycomb の新たな関係も示された。miR-200b 及び 200c の標的遺伝子を検索したところ、Polycomb 複合体に必須の因子である SUZ12 が含まれていることが分かった。実際にレポーターアッセイ及び発現解析を行った結果、リンパ腫細胞で見られる miR-200c の発現低下が SUZ12 の発現上昇に寄与していることが示唆された。

### 8. BCR シグナルを低下させる各種阻害剤の効果の検討

BCR シグナル経路の阻害は B 細胞リンパ腫に対して有効であることが様々な研究で示されており、*SYK*、*PKCβ*、*IKKβ* に対する阻害剤の開発が進められている。そこでこれらの阻害剤が DLBCL 細胞における EZH2 及び miRNA の発現に影響するかを検討した結果、Dasatinib 及び Fostamatinib (*SYK* 阻害剤)、Enzastaurin (*PKCβ* 阻害剤)、BMS-345541 (*IKKβ* 阻害剤) の処理により強力にアポトーシスを誘導し、その時 EZH2 の発現が大きく低下し、さらに抑制されていた miR-200c、miR-203、miR-31 の発現が回復することがわかった。

### D. 考察

これまでの多くの報告から、miRNA の発現は細胞種や組織によって固有のパターンを示し、各細胞の正常な機能、分化、恒常性にとって非常に重要な役割をもつことがわかっている。裏を返せば

miRNA の発現異常は細胞運命に重大な影響を与え、正常からの逸脱が予測される。現にはぼすべでのがんで miRNA の発現異常が見つっている。B 細胞リンパ腫においても網羅的解析やいくつかの miRNA に焦点を当てた研究が盛んに進められているが、DLBCL や Burkitt リンパ腫などの高悪性度の腫瘍細胞の分子病態を説明するに至っていない。またエイズを合併したケースでもいくつかの miRNA 異常が示唆されているが、発症危険因子としての観点からの研究はなされていない。

我々はこれまでに T 細胞性リンパ腫における miRNA 異常の詳細な解析から、エピジェネティックとゲノムの異常に依存した miR-31 の発現欠失が腫瘍細胞の NF- $\kappa$ B の恒常的活性化の正体であることを明らかにしてきた。miRNA による遺伝子制御機構にはある程度の一般性があり、B 細胞リンパ腫でも同様の異常があることがわかった。さらに miR-31 に加えて、マイクロアレイを用いた網羅的解析の結果から、miR-200 ファミリーが正常扁桃や正常抹消血 B 細胞と比較して激減していることを発見した。

臨床検体を用いた網羅的解析によって明らかになったエイズリンパ腫の miRNA 発現の特徴として、①検体間でのばらつきが少なく、リンパ腫に固有の miRNA 発現パターンであると考えられる。②異常は発現上昇と減少が同程度の割合であり、そのほとんどが非エイズリンパ腫と一致した。③エイズと非エイズに共通して見られた異常には、リンパ球の生存やシグナルに関わる miRNA が多く、リンパ腫細胞の生存や悪性化に関わっていると考えられる。④異常のレベルはエイズ合併リンパ腫の方が大きく、悪性度と相関する可能性がある。

特に今回注目した miR-200 ファミリーの発現低下は著しいものであり、他のがんやリンパ腫研究でも類を見ないレベルであった。またクラスター解析の結果では、miR-31 と miR-200 ファミリーが同じクラスターに属し、類似の制御下にある miRNA であることも示唆された。

リンパ腫における miR-200 の機能についての成果は以下にまとめられる。①B 細胞リンパ腫細胞では miR-200 ファミリー、miR-203、miR-31 の発現が低下しており、DNA のメチル化及び Polycomb による H3K27me3 の蓄積によるエピジェネティックな抑制が原因であることを明らかにした。② miR-200、miR-203、miR-31 の新規標的遺伝子を複数同定し、BCR シグナルに対して抑制的に働くことを明らかにした。③ miR-200、miR-203、miR-31 の発現誘導はリンパ腫細胞にアポトーシスを誘導する。④リンパ腫で過剰発現する EZH2 が BCR

シグナルの活性化によって誘導されていることがわかった。

上記の複雑な分子メカニズムはいずれもこれまでに報告がなく、B 細胞リンパ腫の新たな分子モデルとして重要な知見である。本研究で示された BCR シグナル、miRNA、Polycomb という 3 要素の feed-forward loop は、リンパ腫細胞の恒常的なシグナルの活性化とエピジェネティックな異常の維持に対して寄与していることが考えられる。また治験が先行している BCR 阻害剤が EZH2 の発現低下を誘導できることも興味深い。これらの複雑な分子機構の理解は正常 B 細胞の機能や維持においても重要であり、また新たな分子標的の同定にも役立つと期待される。

## E. 結論

DLBCL におけるエピジェネティックな異常による miRNA の異常な発現低下は、BCR シグナルの活性化を介して細胞の生存に寄与し、さらにエピジェネティック制御系にも影響を与えることが示され、リンパ腫の慢性的なシグナル活性化の背景に複雑な分子機構が存在することが分かった。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamagishi M, Watanabe T. New Paradigm of T cell Signaling: Learning from Malignancies (Review Article). *J Clin Cell Immunol*. S12:007, 15pp, 2012.
- 2) Yamagishi M, Watanabe T. Molecular Hallmarks of Adult T Cell Leukemia (Review Article). *Front Microbiol*. 3: 334. Sep. 2012.
- 3) Iwanaga M, Watanabe T, Yamaguchi K. Adult T-cell leukemia: a review of epidemiological evidence. *Front Microbiol* 3: 322. Sep. 2012.
- 4) Nakano K, Watanabe T. HTLV-1 Rex: the courier of viral messages, making use of the host vehicle. *Front Microbiol* 3:330. Sep. 2012.
- 5) Kobayashi-Ishihara M, Yamagishi M, Hara T, Matsuda Y, Takahashi R, Miyake A, Nakano K, Yamochi T, Ishida T, Watanabe T. HIV-1-encoded antisense RNA suppresses viral replication for a prolonged period. *Retrovirology*, 9:38, 17pp. May. 2012.
- 6) Ando T, Imamura H, Suzuki R, Hideki Aizaki H, Watanabe T, Wakita T, Suzuki T. Visualization and Measurement of ATP Levels in Living Cells Replicating Hepatitis C Virus Genome RNA. *PLoS Pathogens*, 8(3):e1002561, 2012.
- 7) Watanabe M, Nakano K, Togano T, Nakashima M, Higashihara M, Kadin M-E, Watanabe T, Horie R. Targeted repression of overexpressed CD30 downregulates NF- $\kappa$ B and ERK1/2 pathway in Hodgkin lymphoma cell lines. *Oncol Res*, 19(10-11):463-9, 2011.

- 8) Watanabe M, Itoh K, Togano T, Kadin M-E., Watanabe T, Higashihara M, Horie R. Ets-1 Activates Overexpression of JunB and CD30 in Hodgkin Lymphoma and Anaplastic Large- Cell Lymphoma. **Am J Pathol**, 180(2):831-838, Feb. 2012
- 9) Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimar K, Ogawa S, Watanabe T. Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- $\kappa$ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers. **Cancer Cell**, 21(1):121-135, Jan. 2012
- 10) Uota S, Dewan MZ, Saitoh Y, Muto S, Itai A, Utsunomiya A, Watanabe T, Yamamoto N, Yamaoka S. An I $\kappa$ B kinase 2 inhibitor IMD-0354 suppresses the survival of adult T-cell leukemia cells. **Cancer Sci**, 103(1):100-106, Jan. 2012
- 11) 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<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type 1-carriers. **Retrovirology**, 8:100, 15pp, Dec. 2011
- 12) Suzuki K, Ishida T, Yamagishi M, Ahlenstiel C, Swaminathan S, Marks K, Murray D, McCartney EM, Beard MR, Alexander M, Purcell DF, Cooper DA, Watanabe T, Kelleher AD. Transcriptional gene silencing of HIV-1 through promoter targeted RNA is highly specific. **RNA Biol**. 8(6):1035-1046, Nov. 2011
- 13) Watanabe T. Current status of HTLV-1 infection. **Int J Hematol**. 94(5):430-434, Oct. 2011
- 14) Vu HA, Beppu Y, Chi HT, Sasaki K, Yamamoto H, Xinh PT, Tanii T, Hara Y, Watanabe T, Sato Y, Ohdomari I. Green Tea Epigallocatechin Gallate Exhibits Anticancer Effect in Human Pancreatic Carcinoma Cells via the Inhibition of Both Focal Adhesion Kinase and Insulin-Like Growth Factor-I Receptor. **J Biomed Biotechnol** 290516(8pp), Jan. 2011
- 15) Yamamoto K, Ishida T, Nakano K, Yamagishi M, Yamochi T, Tanaka Y, Furukawa Y, Nakamura Y, Watanabe T. SMYD3 interacts with HTLV-1 Tax and regulates sub-cellular localization of Tax. **Cancer Sci**, 102(1): 260-266, Jan. 2011
- 16) Chi HT, Ly BTK, Taguchi T, Watanabe T, Sato Y. All-trans retinoic acid inhibits KIT activity and induces apoptosis in gastrointestinal stromal tumor GIST-T1 cell line by affecting on the expression of survivin and Bax protein. **J Exp Clin Cancer Res** 16;29(1):165, Dec. 2010
- 17) Nakashima M, Ishii Y, Watanabe M, Togano T, Umezawa K, Higashihara M, Watanabe T, Horie R. The side population, a precursor of Hodgkin and Reed-Sternberg cells, as a target for NF- $\kappa$ B inhibitors in Hodgkin lymphoma. **Cancer Sci** 101(11):2490-2946, Nov. 2010
- 18) Misawa A, Katayama R, Koike S, Tomida A, Watanabe T, Fujita N. AP-1-dependent miR-21 Expression Contributes to Chemoresistance in Cancer Stem Cell-Like SP Cells. **Oncol Res** 19(1), 23-33, 2010
- 19) Kamihira S, Iwanaga M, Sasaki D, Yamano Y, Okayama A, Umeki K, Kubota R, Izumo S, Yamaguchi K, Watanabe T, Satake M. Intra-and inter-laboratory Variability in HTLV-1 Proviral Load Quantification Using Real-Time Polymerase Chain Reaction Assays: A Multi-Center Study. **Cancer Sci** 101(11):2361-2367, Nov. 2010
- 20) Masuda M, Ohta T, Maruyama T, Ito A, Hayashi T, Tsukasaki K, Kamihira S, Yamaoka S, Hoshino H, Yoshida T, Watanabe T, Stanbridge E-J, Murakam 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): 15511-15522, May 2010
- 21) Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimar K, Koh K-R, 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 (JSPFAD) 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, Aug. 2010
- 22) 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. **Virol J** 7:81, 7pp. Apr. 2010
- 23) Hagiwara K, Kondoh Y, Ueda A, Yamada K, Goto H, Watanabe T, Nakata T, Osada H, Aida Y. Discovery of novel antiviral agents directed against the influenza A virus nucleoprotein using photo-cross-linked chemical arrays. **Biochem Biophys Res Commun** 394(3): 721-727, Apr. 2010
- (総説)
- 1) 山岸誠、Person 人と研究「成人 T 細胞白血病の分子レベルの全体像と、Polycomb-miR-31-NF- $\kappa$ B 経路の異常」、Trands in Hematological Malignancies、4(3): 16-19、Dec. 2012.
- 2) 山岸誠、渡邊俊樹、特集：microRNA の発現制御の異常と疾患「成人 T 細胞白血病(ATL)における microRNA の発現異常」、細胞、44(10)：15-22、2012 年 9 月
- 3) 山岸誠、渡邊俊樹、特集：ATL の基礎と臨床「ATL 細胞のゲノム エピゲノム異常と発現異常」、細胞、44(8)：18-22、2012 年 7 月
- 4) 山岸誠、渡邊俊樹、総説「2.HTLV-1 感染症と miRNA」、ウイルス、62(1)：9-18、2012 年 6 月
- 5) 中野和民、渡邊俊樹、特集：抗ウイルス薬 III.新規抗ウイルス薬の開発動向と展望「抗 HTLV-1 薬開発の現状」、日本臨床、70(4)：671-675、2012 年 4 月
- 6) 渡邊俊樹、特集：造血器腫瘍学-基礎と臨床の最新研究動向— II.造血器腫瘍の基礎 造血器発がんリスク「ウイルスによる発がんリスク」、日本臨床、70(Suppl 2)：671-675、2012 年 4 月
- 7) 山岸誠、渡邊俊樹、「成人 T 細胞白血病から明らかになったクロストーク異常とがん」、ライフサイエンス新着論文レビュー、<http://first.lifesciencedb.jp/archives/4367>、2012 年 2 月

- 8) 渡邊俊樹、「HTLV-1 特命チームと HTLV-1/ATL 研究」、臨床血液 教育講演特集号、52(10) : 27-35、2011 年 10 月
- 9) 渡邊俊樹、特集(1):HTLV-1 感染の検査と臨床「成人 T 細胞白血病(ATL)と HTLV-1 研究の現状」、医療と検査機器・試薬/別冊 機器・試薬、34(4) : 437-446、2011 年 8 月
- 10) 渡邊俊樹、特集 感染に由来するヒトの腫瘍—その現状と対策:「成人 T 細胞白血病ウイルスと白血病/リンパ腫」、臨床と微生物、38 (3) : 241-248、2011 年 5 月
- 11) 渡邊俊樹、特集 分子病態からみた血液疾患診療の進歩:「ATL の分子病態と治療の新展開」、血液内科、62 (4) : 455-462、2011 年 4 月
- 12) 渡邊俊樹、「特集細胞死と造血器腫瘍 ウイルスによる細胞死抑制と造血器腫瘍」、血液内科、62 (2) : 200-207、2011
2. 学会発表  
(国際学会)
- 1) Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Kagami Y, Tsutsumi A, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T, “Loss of miR-31 links NF-κB activation in Adult T-cell leukemia”, Viruses, Genes ad Cancer-2010, Venezia, Italy, Sep. 30, 2010 (Sep. 29 – Oct.1, 2010) (Poster)
- 2) Nakano K, Ando T, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Watanabe T, “A Novel Function of HTLV-1 Rex in Inhibition of the Host mRNA Surveillance Mechanism (NMD) for Protection of the Viral Genomic mRNA“, the 15<sup>th</sup> International Conference on Huma Retrovirology: HTLV and Related Viruses, Lueven, Belgium, June 5-8, 2011
- 3) Yamagishi M, Kazumi Nakano, Tadanori Yamochi, Ariko Miyake, Yayoi Kagami, Akihisa Tsutsumi, Aiko Otsubo, Seishi Ogawa, Atae Utsunomiya, Kazunari Yamaguchi, Kaoru Uchimaru, Watanabe T, “Genetic and Epigenetic Loss of miR-31 Activates NIK-dependent NF-κB Pathway in Adult T-cell Leukemia “, the 15<sup>th</sup> International Conference on Huma Retrovirology: HTLV and Related Viruses, Lueven, Belgium, June 5-8, 2011
- 4) Asanuma S, Kawanami K, Nakano K, Yamagishi M, Yamaguchi K, Utsunomiya A, Watanabe T, “Over-expression of dominant-negative Helios isoforms in adult T-cell leukemia (ATL) cells “, the 15<sup>th</sup> International Conference on Huma Retrovirology: HTLV and Related Viruses, Lueven, Belgium, June 5-8, 2011
- 5) Matsuda Y, Yamagishi M, Kobayashi M, Hara T, Ishida T, Watanabe T, “Host Polycomb Family Acts as an Epigenetic Repressor for HIV-1 Transcription”, the XV International Congress of Virology, Sapporo, Sep. 13, 2011 (Sep. 11-16, 2011)
- 6) Kobayashi-ishihara M, Yamagishi M, Hara T, Matsuda Y, Miyake A, Nakano K, Ishida T, Watanabe T, “A Novel Antisense RNA of HIV-1, Ale, Functions as a Self-limiting Factor for the HIV-1 Infection”, the XV International Congress of Virology, Sapporo, Sep. 13, 2011 (Sep. 11-16, 2011)
- 7) Nakano K, Ando T, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Watanabe T, “A Novel Function of HTLV-1 REX in Inhibition of the Host mRNA Surveillance Mechanism (NMD) for Protection of the Viral Genomic mRNA”, the XV International Congress of Virology, Sapporo, Sep. 13, 2011 (Sep. 11-16, 2011)
- 8) Firouzi S, Aoki S, Suzuki Y, Yamochi T, Nakano k, Sugano S, Watanabe T, “Development of a New High-throughput Method to Investigate T-cell Clonality in the HTLV-1 Infected Individuals by Enrichment of the HTLV-1 Integration Site”, the XV International Congress of Virology, Sapporo, Sep. 13, 2011 (Sep. 11-16, 2011)
- 9) Takamori A, Hasegawa A, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Shimizu Y, Choi I, Uike N, Okamura J, Watanabe T, Kannagi M, “Functional Impairment of Tax-Specific but not CMV-Specific CD8<sup>+</sup> T-cells in a Minor Population of Asymptomatic HTLV-1-carriers”, the XV International Congress of Virology, Sapporo, Sep. 15, 2011 (Sep. 11-16, 2011)
- 10) Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Miyake A, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsubara A, Ogawa S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T, “Genetic and Epigenetic Loss of miR-31 Activates NIK-dependent NF-κB Pathway in Adult T-cell Leukemia”, The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases, Tokyo, Sep. 15-17, 2011
- 11) Nakano K, Ando T, Yamagishi M, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Brighty D, Watanabe T, “A Novel Function of HTLV-1 Rex in Inhibition of the Host mRNA Surveillance Mechanism (NMD) for Protection of the Viral Genomic mRNA”, The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases, Tokyo, Sep. 15-17, 2011
- 12) Chi HT, Ly BTK, Nagamura F, Tojo A, Kano Y, Watanabe T, Sato Y, “PKC412 (midostaurin) - a potential inhibitor of ETV6-NTRK3”, The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases, Tokyo, Sep. 15-17, 2011
- 13) Asanuma S, Kawanami K, Yamagishi M, Nakano K, Yamaguchi K, Utsunomiya A, Watanabe T, “Novel Helios variants found in ATL cells hamper functions of Ikaros family proteins and induce T cell proliferation.”, The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases, Tokyo, Sep. 15-17, 2011
- 14) Watanabe T, “Risk factors for developing ATL in HTLV-1 carriers”, The Fourth Annual T-CELL Lymphoma Forum, San Francisco, USA, Jan. 27, 2012 (Invited Talk)
- 15) Watanabe T, “Polycomb—miRNA—NF-κB linkage in ATL cells”, The 5<sup>th</sup> Annual Meeting & Symposium of The Association for HTLV and Related Diseases, IMSUT, Tokyo, 8.25-8.26, 2012 (Invited)
- 16) Watanabe T, “The role of microRNAs in Adult T-Cell Leukemia”, Viruses, Genes and Cancer workshop, Venice, Italy, Oct. 25-27, 2012 (Invited)
- (国内学会)
- 1) 山岸誠、三宅在子、中野和民、片野晴隆、岡田誠治、渡邊俊樹、「エイズ関連悪性リンパ腫における miRNA の発現異常とシグナル伝達系に与える影響」、第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2010

- 年 11 月 24 日 (2010 年 11 月 24 日～26 日) (ポスター発表)
- 2) 山岸誠、中野和民、三宅在子、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹、「ATL 細胞における Polycomb 依存的 miR-31 の発現制御機構と NF- $\kappa$ B 経路に与える影響の解析」、日本エピジェネティクス研究会第 4 回年会、鳥取、2010 年 5 月 28 日(2010 年 5 月 28 日～29 日) (ポスター発表)
  - 3) 山岸誠、中野和民、三宅在子、加賀美弥生、包明久、宇都宮與、山口一成、内丸薫、小川誠司、渡邊俊樹、「ATL 細胞におけるエピジェネティックな異常は、miR-31 発現低下を介して NF- $\kappa$ B の恒常的活性化に寄与する」、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月 8 日(2010 年 11 月 7 日～9 日)(口頭発表)
  - 4) Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Kagami Y, Tsutsumi A, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T, “Loss of miR-31 links NF- $\kappa$ B activation in adult T-cell leukemia”, 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) (口演発表)
  - 5) 山岸誠、中野和民、三宅在子、加賀美弥生、包明久、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹、「ATL 細胞におけるエピジェネティックな異常による miR-31 の発現低下と NF- $\kappa$ B 活性化機構」、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) (口演発表)
  - 6) 山岸誠、中野和民、三宅在子、矢持忠徳、加賀美弥生、包明久、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹、「ATL 細胞における miR-31 発現低下による NF- $\kappa$ B の恒常的活性化機構」、第 50 回日本リンパ網内系学会総会、2010 年 6 月 19 日 (2010 年 6 月 18 日～19 日) (ポスター発表)
  - 7) 中野和民、山岸誠、三宅在子、加賀美弥生、包明久、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹、「成人 T 細胞白血病 (ATL) 患者での microRNA 発現異常の実態」、第 50 回日本リンパ網内系学会総会、2010 年 6 月 18 日 (2010 年 6 月 18 日～19 日) (口頭発表/ポスター発表)
  - 8) 小林美栄、山岸誠、原拓馬、松田有加、三宅在子、中野和民、石田尚臣、渡邊俊樹、「HIV-1 由来新規 antisense RNA, ALe の同定と機能解析」、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月 7 日(2010 年 11 月 7 日～9 日) (口頭発表)
  - 9) 小林美栄、山岸誠、原拓馬、松田有加、三宅在子、中野和民、石田尚臣、渡邊俊樹、「HIV-1 由来新規 antisense RNA, ALe はウイルス増殖を抑制する」、第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2010 年 11 月 24 日 (2010 年 11 月 24 日～26 日) (ワークショップ)
  - 10) Matsuda Y, Yamagishi M, Kobayashi M, Hara T, Ishida T, Watanabe T, “Polycomb repressive complex2 suppresses HIV-1 transcription”, 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 8 日 (2010 年 12 月 7 日～10 日) (ポスター発表)
  - 11) 井上智裕、石川陽介、小林(石原)美栄、戸村友宣、吉田エリカ、山岸誠、矢持忠徳、石田尚臣、中野和民、渡邊俊樹、「HTLV-1 由来新規アンチセンス RNA の構造及び機能解析」、第 4 回 HTLV-1 研究会・合同班会議、2011 年 9 月 18 日～19 日
  - 12) 矢持忠徳、守田陽平、矢持淑子、佐々木陽介、Firouzi Sanaz、中島誠、渡辺信和、渡邊俊樹、「成人性 T 細胞性白血病におけるがん幹細胞の同定への試み」、第 4 回 HTLV-1 研究会・合同班会議、2011 年 9 月 18 日～19 日
  - 13) Firouzi Sanaz, 青木桜、鈴木穰、矢持忠徳、中野和民、中井謙太、菅野純夫、渡邊俊樹、“Development of a new high-throughput method to investigate T-cell-clonality and integration site preference among HTLV-1 infected individuals”, 第 4 回 HTLV-1 研究会・合同班会議、2011 年 9 月 18 日～19 日
  - 14) Nakano K, Ando T, Yamagishi M, Ishida T, Ohsugi T, Tanaka Y, Brighty D, Watanabe T, “A Novel Function of HTLV-1 Rex in Inhibition of the Host mRNA Surveillance Mechanism(NMD) for Protection of the Viral Genomic mRNA”, 第 4 回 HTLV-1 研究会・合同班会議、2011 年 9 月 18 日～19 日
  - 15) Saitoh Y, Hagiwara G, Uota, Uno M, Ogawa S, Utsunomiya A, Watanabe T, Yamaoka S, “A20 enhances constitutive activation of NF- $\kappa$ B in adult T-cell Leukemia cells”, 第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 3 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日)
  - 16) 山岸誠、中野和民、矢持忠徳、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹、「Polycomb 依存的なエピジェネティック異常による miR-31 の発現低下と NF- $\kappa$ B 活性化機構」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 3 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日)
  - 17) 渡邊俊樹、「我が国における HTLV-1 感染の疫学研究の現状」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 3 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日) (シンポジウム/招待講演)
  - 18) 高森絢子、長谷川温彦、宇都宮與、前田裕弘、山野嘉久、清水由起子、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 感染キャリアに観察された Tax 特異的 CTL の機能不全」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 4 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日)
  - 19) 浅沼里実、川波克明、山岸誠、中野和民、山口一成、宇都宮與、渡邊俊樹、「新規 ATL 型 Helios は Ikaros 転写因子ファミリーの機能を阻害し、T 細胞の増殖を促進する。」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 4 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日)
  - 20) 矢持忠徳、守田洋平、矢持淑子、佐々木陽介、Sanaz Firouzi、中島誠、渡辺信和、宇都宮與、中内啓光、渡邊俊樹、「成人性 T 細胞白血病におけるがん幹細胞の同定への試み」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 4 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日)
  - 21) 中野和民、松原亜以子、矢持忠徳、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹、「cMyb 変異体発現パターンの変化が細胞の恒常性と腫瘍化に及ぼす影響の解析」、第 70 回日本癌学会学術総会、名古屋、2011 年 10 月 5 日 (2011 年 10 月 3 日～5 日)
  - 22) 渡邊俊樹、「HTLV-1 特命チームと HTLV-1/ATL 研究」、第 73 回日本血液学会学術集会、名古屋、2011 年 10 月 14 日 (2011 年 10 月 14 日～16 日)
  - 23) Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T, “Polycomb-Mediated Epigenetic Silencing of miR-31 Activates NF- $\kappa$ B Signaling in Adult T-cell Leukemia”, 第 73 回日本血液学会学術集会、名古屋、2011 年 10 月 14 日 (2011 年 10 月 14 日～16 日)

- 24) Inoue M, Nakamura N, Abe K, Toyoshima T, Horie R, Watanabe T, “Secreted EBV coding miRNAs in the microenvironment of EBV positive lymphoma”, 第73回日本血液学会学術集会、名古屋、2011年10月14日(2011年10月14日～16日)
- 25) Uchimarui K, Yamano Y, Tsukasaki K, Uike N, Utsunomiya A, Iwanaga M, Hamada T, Iwatsuki K, Watanabe T, “Nation-wide survey of the management of adult T-cell leukemia and HTLV-1 carrier”, 第73回日本血液学会学術集会、名古屋、2011年10月14日(2011年10月14日～16日)
- 26) Chi HT, Ly BTK, Naganuma F, Tojo A, Watanabe T, Sato Y, “Dasatinib and dDPKC412 Inhibited ETV6-NTRK3 Activity in AML Cell Lines with ETV6-NTRK3 fusion gene”, 第73回日本血液学会学術集会、名古屋、2011年10月14日(2011年10月14日～16日)
- 27) Horie R, Nakashima M, Watanabe M, Togano T, Umezawa K, Watanabe T, “The side population, as a precursor of Hodgkin and Reed-Stemberg cells in Hodgkin lymphoma”, 第73回日本血液学会学術集会、名古屋、2011年10月15日(2011年10月14日～16日)
- 28) Yuki H, Ueno S, Tatetsu H, Niuro H, Hata H, Watanabe T, “PU.1-induced growth arrest and apoptosis in classical Hodgkin lymphoma cell lines”, 第73回日本血液学会学術集会、名古屋、2011年10月15日(2011年10月14日～16日)
- 29) 松田有加, 山岸誠, 小林美栄, 原拓馬, 石田尚臣, 渡邊俊樹, 「潜伏感染細胞における Polycomb group による HIV-1 転写抑制機構の解明」第25回日本エイズ学会学術集会・総会(2011年11月30日～12月2日)
- 30) 藤川 大, 山岸 誠, 黒川直也, 副島あい, 石田尚臣, 中野和民, 渡邊俊樹, “HTLV-1 viral protein Tax mediates epigenetic deregulation by interaction with a Polycomb group protein, EZH2”, 第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月14日(2011年12月13日～16日)
- 31) 井上智裕, 石川陽介, 小林(石原)美栄, 山岸誠, 矢持忠徳, 石田尚臣, 中野和民, 渡邊俊樹, “Structural analysis of AS-1, a novel form of antisense RNA encoded by HTLV-1”, 第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月14日(2011年12月13日～16日)
- 32) 浅沼里実, 川波克明, 山岸 誠, 中野和民, 山口一成, 宇都宮 與, 渡邊俊樹, 「新規 ATL 型 Helios は Ikaros 転写因子ファミリーの機能を阻害し、T細胞の増殖を促進する」、第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月14日(2011年12月13日～16日)
- 33) 青木 桜, ふいるじ さな一ず, 矢持忠徳, 中野和民, 鈴木 穰, 中井謙太, 菅野純夫, 渡邊俊樹, 「次世代シーケンサーを用いた HTLV-1 感染細胞 clonality 解析システムの構築」、第34回日本分子生物学会年会、横浜、2011年12月13日(2011年12月13日～16日)
- 34) Firouzi Sanaz, 青木桜, 鈴木穰, 矢持忠徳, 中野和民, 中井謙太, 菅野純夫, 渡邊俊樹, “Development of a new high-throughput method to investigate T-cell-clonality and integration site preference among HTLV-1 infected individuals”, 平成24年度東京大学医科学研究所研究成果発表会, 東京大学医科学研究所, 2012年5月31日～6月1日(ポスター発表)
- 35) 中野和民, 安東友美, 山岸誠, 石田尚臣, 大杉剛生, 田中勇悦, David W. Brighty, 渡邊俊樹, 「RNA ウィルスと宿主細胞の新たな攻防: HTLV-1 Rexによる mRNA品質管理機構 Nonsense-Mediated mRNA Decay (NMD) の抑制」, 平成24年度東京大学医科学研究所研究成果発表会, 東京大学医科学研究所, 2012年5月31日～6月1日(ポスター発表)
- 36) 山岸誠, 中野和民, 宇都宮與, 山口一成, 内丸薫, 小川誠司, 渡邊俊樹, 「成人T細胞白血病から明らかになった新たなクロストーク: Polycomb-miR-31-NF-kB経路の異常とがん」, 平成24年度東京大学医科学研究所研究成果発表会, 東京大学医科学研究所, 2012年5月31日～6月1日(ポスター発表)
- 37) 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細胞性白血病における Tumor Initiating Cell の探索の試み」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(口演発表)
- 38) 相良康子, 井上由紀子, 後藤信代, 長野冬子, 入田和男, 清川博之, 矢持忠徳, 渡邊俊樹, JSPFAD, 「HTLV-1 感染者における産生抗体の性状解析 -プロウイルス量との関連について」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(口演発表)
- 39) 武本重毅, Ratiorn Pornkuna, 井上佳子, 榮 達智, 原田菜穂子, 長倉祥一, 日高道広, 清川哲志, 鶴澤耕治, 守田和樹, 芳賀克夫, 岩永正子, 相良康子, 渡邊俊樹, 河野文夫, 「HTLV-1 キャリア から ATL 発症・急性転化・治療経過における sCD30・sIL-2R 変化とその役割」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(口演発表)
- 40) 永田安伸, 佐藤亜以子, 奥野友介, 千葉健一, 田中洋子, 白石友一, 吉田健一, 真田 昌, 宇都宮與, 山口一成, 大島孝一, 宮野 悟, 宮脇修一, 渡邊俊樹, 小川誠司, 「全エクソン解析により明らかとなった成人T細胞性白血病における TET2 変異」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(口演発表)
- 41) 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 TIAM2 変異体の同定と遺伝子発現異常の解析」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(ポスター発表)
- 42) 横山弘一, 中野和民, 安東友美, 大杉剛生, 田中勇悦, 渡邊俊樹, 「HTLV-1 Rex の宿主T細胞における mRNA 品質管理機構(NMD)の抑制と宿主細胞への影響」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(ポスター発表)
- 43) 藤川 大, 山岸 誠, 黒川直也, 副島あい, 石田尚臣, 中野和民, 渡邊俊樹, 「HTLV-1 タンパク質 Tax と Polycomb タンパク質との新規相互作用が T細胞に与える影響の解析」, 第5回 HTLV-1 研究会・シンポジウム, 東京大学医科学研究所, 2012年8月26日(2012年8月25日～8月26日)(ポスター発表)
- 44) 掛合綾香, 深澤真澄, 宇野雅哉, 宇都宮與, 渡邊俊樹, 斉藤愛記, 山岡昇司, 「ユビキチン修飾酵素 A20 は成人T細胞白血病(ATL)細胞の生存に必要である」, 第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月19日(2012

- 年9月19日- 9月21日) (口演発表)
- 45) 山本悠貴、大野(宮本)麻美子、渡邊俊樹、太田 力、「一塩基多型によるDNA修復蛋白質の活性低下」、第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月19日(2012年9月19日- 9月21日) (ポスター発表)
  - 46) 矢持忠徳、守田陽平、矢持淑子、サナズ フィルジ、佐々木陽介、渡辺信和、内丸 薫、宇都宮與、渡邊俊樹、太田 力、「成人性T細胞性白血病におけるがん幹細胞の同定への試み」、第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月20日(2012年9月19日- 9月21日) (ポスター発表)
  - 47) 山岸誠、渡邊俊樹、「多機能性分子miR-31の発現低下とがん関連シグナル伝達」、第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月20日(2012年9月19日- 9月21日) (口演発表)
  - 48) 武本重毅、相良康子、渡邊俊樹、「成人T細胞白血病患者にみられる可溶性CD30上昇」、第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月21日(2012年9月19日- 9月21日) (口演発表)
  - 49) 永田安伸、真田 昌、吉田健一、白石友一、佐藤亜以子、宇都宮與、山口一成、大島孝一、宮脇修一、宮野悟、渡邊俊樹、小川誠司、「全エクソン解析により明らかとなった成人T細胞性白血病におけるTET2変異」、第71回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月21日(2012年9月19日- 9月21日) (口演発表)
  - 50) Yamagishi M, Takahashi R, Nakano K, Asanuma S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, 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、京都国際会議場、2012年10月19日(2012年10月19日- 10月21日) (口演発表)
  - 51) Takemoto S, Pornkuna R, Inoue Y, Sakai T, Harada N, Nagakura S, Hidaka M, Kiyokawa T, Uzawa K, Morita K, Haga Y, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, “Intervention in adult T-cell leukemia following soluble CD30 elevation”, 第74回日本血液学会学術集会、京都国際会議場、2012年10月19日(2012年10月19日- 10月21日) (口演発表)
  - 52) Togano T, Nakashima M, Watanabe M, Watanabe T, Horie R, Higashihara M, “Analysis of NF- $\kappa$ B activation as a molecular target for the treatment of acute myeloid leukemia”, 第74回日本血液学会学術集会、京都国際会議場、2012年10月19日(2012年10月19日- 10月21日) (ポスター発表)
  - 53) Yamagishi M, Katano H, Nakano K, Ota Y, Hishima T, Okada S, Watanabe T, “miRNA signature and its functional involvement in aggressiveness of diffuse large B cell lymphoma”, 第74回日本血液学会学術集会、京都国際会議場、2012年10月20日(2012年10月19日- 10月21日) (口演発表)
  - 54) Asanuma S, Nakano K, Yamagishi M, Ogawa S, Yamaguchi K, Utsunomiya A, Watanabe T, “Aberrantly spliced Helios variants in ATL cells induce T cell proliferation”, 第74回日本血液学会学術集会、京都国際会議場、2012年10月20日(2012年10月19日- 10月21日) (ポスター発表)
  - 55) Hiromichi Y, Ueno S, Tatetsu H, Niiro H, Hata H, Okada S, Watanabe T, Akashi K, Mitsuya H, Okuno Y, “PU. 1 is a potent tumor suppressor in classical Hodgkin lymphoma cells”, 第74回日本血液学会学術集会、京都国際会議場、2012年10月21日(2012年10月19日- 10月21日) (口演発表)
  - 56) Horie R, Watanabe M, Itoh K, Togano T, Kadin ME, Watanabe T, Higashihara M, “Molecular mechanisms of CD30 overexpression in Hodgkin lymphoma and anaplastic large-cell lymphoma”, 第74回日本血液学会学術集会、京都国際会議場、2012年10月21日(2012年10月19日- 10月21日) (口演発表)
  - 57) 松田有加、山岸誠、小林美栄、原 拓馬、石田尚臣、渡邊俊樹、「HIV-1潜伏化の成立と維持における Polycomb groupの機能解析」、第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪国際会議場、2012年11月13日(2012年11月13日- 11月15日) (ポスター発表)
  - 58) 小林美栄、山岸誠、松田有加、中野和民、矢持忠徳、石田尚臣、渡邊俊樹、「HIV-1由来antisense RNAによるウイルス複製抑制メカニズムの解析」、第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪国際会議場、2012年11月13日(2012年11月13日- 11月15日) (ポスター発表)
  - 59) 藤川 大、山岸誠、黒川直也、副島あい、石田尚臣、中野和民、渡邊俊樹、「HTLV-1タンパク質Taxは Polycombタンパク質EZH2との相互作用を介してエピジェネティクスの脱制御を誘導する」、第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪国際会議場、2012年11月14日(2012年11月13日- 11月15日) (口演発表)
  - 60) 福田裕幸、日野原邦彦、島村徹平、渡邊俊樹、宮野悟、後藤典子、「ヒト乳がんにおいてAmphiregulin/EGFR経路はmammosphereの形成に寄与する」、第35回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2012年12月11日(2012年12月11日- 12月14日) (ポスター発表)
  - 61) 小林(石原)美栄、山岸誠、松田有加、中野和民、矢持忠徳、石田尚臣、渡邊俊樹、「HIV-1由来新規antisense RNA, *ASP-L*はウイルスを制御する機能性RNAである」、第35回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2012年12月12日(2012年12月11日- 12月14日) (ポスター発表)
  - 62) 横山弘一、中野和民、安東友美、大杉剛生、田中勇悦、渡邊俊樹、「HTLV-1 RexにおけるmRNA品質管理機構(NMD)の抑制及び宿主T細胞への影響」、第35回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2012年12月12日(2012年12月11日- 12月14日) (ポスター発表)
  - 63) Firouzi S, Yamochi T, Lopez Y, Aoki S, Suzuki Y, Nakano K, Nakai K, Sugano S, Watanabe T, “Development of a New High-throughput Method to Investigate T-cell-clonality and Integration Site Preference among HTLV-1-infected Individuals”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2012年12月14日(2012年12月11日- 12月14日) (ポスター発表)
- (その他)
- 1) 渡邊俊樹、「HTLV-1感染症の最近の話題：ATL発症予防と新規治療薬開発に向けて」、第6回大分血液・腫瘍セミナー、大分大学、由布、2011年1月20日(招待講演)
  - 2) 渡邊俊樹、「HTLV-1感染細胞の分子疫学」、平成22年度「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」公開シンポジウム/支援班 ATL ミニワークショップ、東京、2011年2月8日(2011年2月8日~9日)

- 3) 渡邊俊樹、「HTLV-1 母子感染予防対策」、東京都 HTLV-1 母子感染予防に関する専門職向け研修会、東京、2011 年 2 月 24 日 (招待講演)
  - 4) 渡邊俊樹、「ATL 研究の歩みとこれからの展望」、JST 地域関連事業 ATL(成人 T 細胞白血病・リンパ腫)シンポジウム 2011 in 福岡、福岡、2011 年 2 月 27 日 (基調講演とパネルディスカッション)
  - 5) 渡邊俊樹、「HTLV-1 の基本的な事項と ATL について」、厚生労働省 HTLV-1 母子感染予防対策全国研修会、東京、2011 年 3 月 2 日 (招待講演)
  - 6) 山岸誠、「ATL における Polycomb-miRNA-NF- $\kappa$ B 経路」、GCOE 特別セミナー<医科学教育セミナー>、第 3 回疾患医科学ミニシンポジウム HTLV-1 と疾患、東京、2011 年 5 月 20 日 (特別講演)
  - 7) 渡邊俊樹、「HTLV-1 /ATL 研究の現状」、第 11 回血液フォーラム 21—ウイルス感染と血液疾患、京都、2011 年 5 月 28 日 (特別講演)
  - 8) 渡邊俊樹、協和発酵キリン本社「ATL 教育講演」、東京、2011 年 6 月 27 日 (招待講演)
  - 9) 渡邊俊樹、「HTLV-1 ウイルス学と感染細胞研究の新たな展開」、第 9 回 HAM 治療研究会、大阪、2011 年 7 月 29 日 (特別講演)
  - 10) Watanabe T, "Polycomb-microRNA- signal transduction linkage in adult T-cell leukemia (ATL)", Todai Forum 2011"Forum on Systems Biology and Genomic Medicine"-Hormone Receptor and Intracellular Signaling: From Chromatin to Clinic, Lyon, France, Oct. 20 & 21, 2011
  - 11) 渡邊俊樹、「HTLV-1 感染症と母子感染予防」、第 10 回東京新生児研究会、東京、2011 年 11 月 19 日 (特別講演)
  - 12) 山岸誠、「成人 T 細胞白血病におけるエピジェネティック依存的な microRNA 異常と NF- $\kappa$ B シグナル」、日本大学歯学部セミナー、東京、2012 年 2 月 9 日 (特別講演)
  - 13) 渡邊俊樹、「HTLV-1 の基本的な事項と母子感染について」、平成 23 年度母子保健支援者総合研修会、秋田、2012 年 2 月 11 日
  - 14) 渡邊俊樹、「ATL 細胞の増殖の仕組みと新たな治療法の開発」、ATL シンポジウム in 沖縄、沖縄、2012 年 3 月 10 日
  - 15) 渡邊俊樹、「HTLV-1 による ATL 発症機構の解明を目指して」、文部科学省特別研究経費研究推進「ATL 対策宮崎モデルの確立に向けて」特別講演会、宮崎大学医学部、宮崎、2012 年 5 月 9 日(招待講演)
  - 16) 渡邊俊樹、「HTLV-1 による ATL 発症機構の解明を目指して—新規治療法開発への可能性」、平成 24 年度熊本大学名医に学ぶセミナー、熊本大学医学部、熊本、2012 年 5 月 30 日(招待講演)
  - 17) 渡邊俊樹、「日本における HTLV-1/ATL 研究、対策の歴史、現状」、第 6 回北里血液学セミナー、北里大学病院、相模原、2012 年 6 月 6 日(招待講演)
  - 18) 渡邊俊樹、「ATL 細胞における Polycomb-miRNA-NF- $\kappa$ B リンケージ—新規治療法開発への新たな視点」、文部科学省新学術領域研究生命科学系 3 分野支援活動(がん、ゲノム、脳)合同シンポジウム、東京ステーションコンファレンス、2012 年 7 月 6 日
  - 19) 渡邊俊樹、「HTLV-1 による ATL 発症機構の解明の現
- 状—新規治療法開発への試み」、第 15 回北海道ウイルス感染症セミナーの会、北海道大学学術交流会館、札幌、2012 年 9 月 1 日(招待講演)
- 20) 渡邊俊樹、「成人 T 細胞白血病(ATL)における microRNA 発現異常とその意義」、平成 24 年度遺伝子病制御研究所研究集会、北海道大学医学部学友会館フ ラテ、札幌、2012 年 9 月 18 日(招待講演)
- H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし

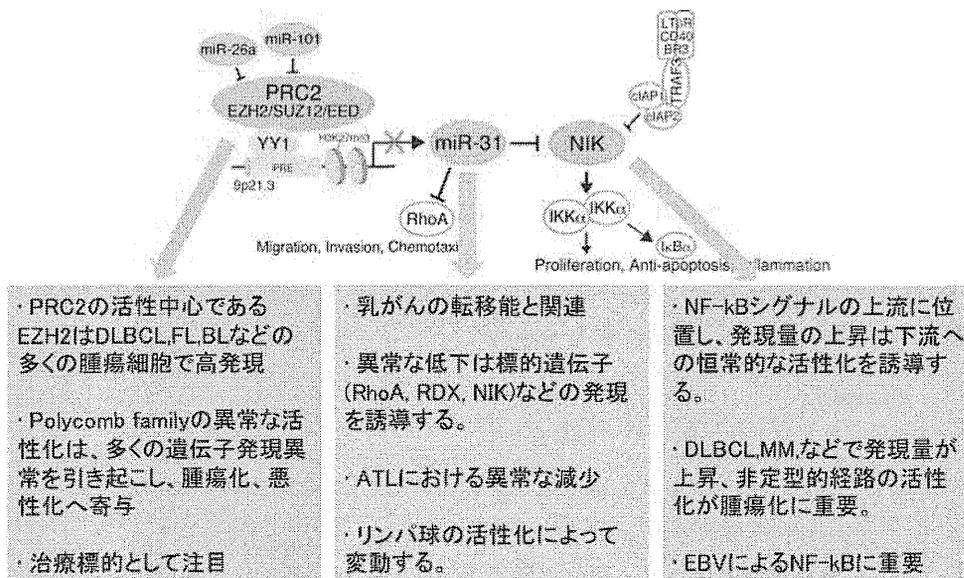


図 1. miR-31 の分子メカニズム

エイズリンパ腫で大きく発現低下を示す miR-31 はエピジェネティックな変化によって抑制される。miR-31 の発現低下は NIK を介した恒常的 NF-κB の活性化に寄与する。

	AIDS-DLBCL / Tonsil	DLBCL / Tonsil
hsa-miR-31	-16.311848	-9.63479
hsa-miR-200a	-311.43417	-113.90712
hsa-miR-200b	-1218.1031	-738.97595
hsa-miR-200c	-1187.8469	-773.30994
hsa-miR-203	-694.1227	-253.87569
hsa-miR-205	-5388.208	-3141.785
hsa-miR-141	-1344.1993	-432.0043
hsa-miR-429	-216.57397	-79.212006

図 2. エイズリンパ腫における miRNA の解析

エイズ及び非エイズ DLBCL における miR-200 ファミリーの発現異常。正常扁桃と比較した fold change として示した。リンパ腫細胞におけるこれらの miRNA の大幅な発現減少は、DNA 及びヒストンのメチル化によって誘導されている。

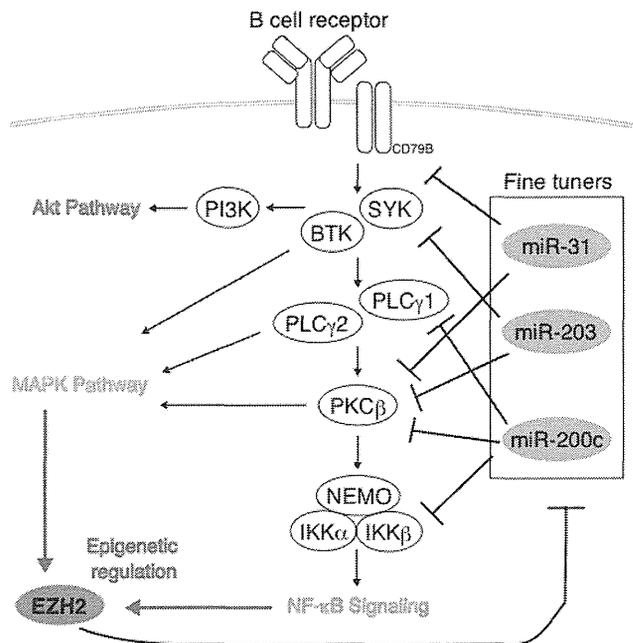


図 3. miRNA による BCR シグナルの新たな制御メカニズム

正常 B 細胞では、miR-200c、miR-203、miR-31 が複数の BCR シグナル経路因子を標的にすることによってシグナルのブレーキとして働いていると考えられる。エピジェネティックな異常によってこれらの miRNA の発現が抑制されると、BCR シグナルが慢性的に活性化する。また、これらの miRNA の発現抑制に寄与する EZH2 は BCR シグナルによって発現が誘導され、feed-forward loop によって異常なシグナルが維持されることが考えられる。

## エイズリンパ腫の新たな病型分類法と新規病因の探索

研究分担者：片野晴隆（国立感染症研究所感染病理部）

研究協力者、共同研究者等：

大田泰徳（虎の門病院）、比島恒和、味澤篤、船田信顕、山田侑子、塩沢由美子（がん・感染症センター都立駒込病院）、望月眞（杏林大学）、峰宗太郎、田沼順子、萩原将太郎、岡慎一（国立国際医療研究センター）、児玉良典、矢嶋敬史郎、小泉祐介、上平朝子（国立病院機構大阪医療センター）、小柳津直樹、鯉淵智彦（東京大学医科学研究所病院）、森谷鈴子、横幕能行、小島勇貴、永井宏和（名古屋医療センター）、岡田誠治（熊本大学）、渡邊俊樹（東京大学新領域）、坂本康太、佐多徹太郎、長谷川秀樹（国立感染症研究所）

**研究要旨：**エイズ患者におけるリンパ腫の発症率は増加傾向にあり、他の日和見感染症と比べ死亡率が高いことから、患者の予後に直接関係する症例も多い。本研究ではエイズ関連リンパ腫について、次の成果を得た。（１）Epstein-Barr virus (EBV)陽性日和見リンパ腫におけるEBV miRNAの発現プロファイルを明らかにした。（２）WHO分類第4版に基づく病理診断の手引きとなるものを作成し、日本の病理医の目の届く専門誌に掲載した。（３）日本の過去のエイズ関連リンパ腫症例をWHO分類第4版に基づき再分類し、臨床病理学的特徴を明らかにした。（４）日本のエイズ剖検例につき、リンパ腫の発症率を明らかにした。これらのデータは日本のエイズ関連リンパ腫の臨床疫学の基礎データとなるばかりではなく、その発症機構を考える上で重要な基礎資料となる。また、診断の手引きは日本における正確なエイズ関連リンパ腫の診断に寄与するものと期待される。

### A. 研究目的

リンパ腫はエイズに合併する悪性腫瘍の中で、生命予後に関係する最も重要な合併症の一つであり、この数年、日本では増加傾向にある。2008年に発表されたWHOのリンパ腫の新しい組織分類（WHO分類第4版、新WHO分類）ではエイズ関連リンパ腫として、びまん性大細胞性B細胞リンパ腫（diffuse large B cell lymphoma, DLBCL）、バーキットリンパ腫（Burkitt lymphoma, BL）、ホジキンリンパ腫、primary effusion lymphoma（PEL）、plasmablastic lymphoma（PBL）などを挙げている。エイズ関連リンパ腫は一般に進行が速く、早期の正確な診断のもとに適切な治療法が選択されることが望まれる。しかし、エイズ関連リンパ腫の病理診断には、いくつかの困難な点がある。一つは、病理組織像が健常者に発症するそれと異なり、非典型的な組織像を示すことがある点である。たとえば、バーキットリンパ腫はstarry sky像を示す組織像が典型であるが、エイズ患者に発症するバーキットリンパ腫では明瞭なstarry sky像を示さないものも少なくなく、DLBCLとの鑑別が困難である。また、エイズ関連リンパ腫にはprimary effusion lymphomaやplasmablastic

lymphomaなど、エイズ患者にしか見られないリンパ腫が発症する。この2つのリンパ腫はB細胞性リンパ腫でありながら、B細胞マーカーの発現が欠落する。こうした、エイズ関連リンパ腫の病理診断の特殊性を考慮し、本研究では、エイズ関連リンパ腫の病理診断に必要な手引きを作成するとともに、日本におけるエイズ関連リンパ腫の実態を把握することを目的とし、次の4つの研究課題に取り組んだ。

（１）エイズ関連リンパ腫で、大きな比率を占めるEpstein-Barr virus (EBV)陽性日和見リンパ腫におけるEBV miRNAの発現を検討。

（２）WHO分類第4版に基づく病理診断の手引きとなるものを作成すること。

（３）日本の過去のエイズ関連リンパ腫症例をWHO分類第4版に基づき再分類し、臨床病理学的特徴を明らかにすること。

（４）日本のエイズ剖検例につき、リンパ腫の発症率を明らかにすること。

これらの研究から、WHO分類第4版に基づいた正しい病理診断が日本で普及し、日本のエイズ関連リンパ腫の正確な臨床病理疫学が把握されるとともに、発症機構や治療の開発に結び付く基礎、臨床研究の基盤となる情報を提供できることが期