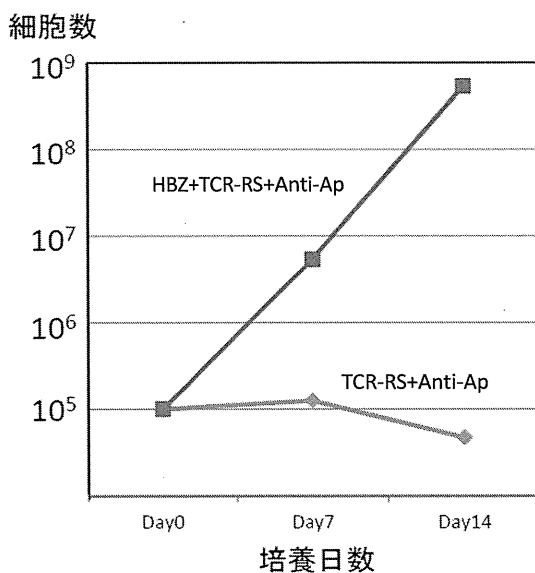


本研究は愛知県がんセンター動物実験委員会および組み換え DNA 委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1. INK4a/Arf^{-/-}マウス由来胎児肝臓細胞から *in vitro* で誘導した T 細胞に HBZ, TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子あるいはコントロールとして HBZ のみ、もしくは TCR-RS 遺伝子+Anti-Ap 遺伝子を発現させた T 細胞をサイトカイン非存在下で培養し、細胞増殖を比較した。HBZ 単独では細胞が速やかに減少したのに対し、HBZ, TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子の 3 者を有する細胞は指数関数的に増殖し、一方 TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子の 2 者を有する細胞はほとんど増殖しなかった (図 1)。

図 1

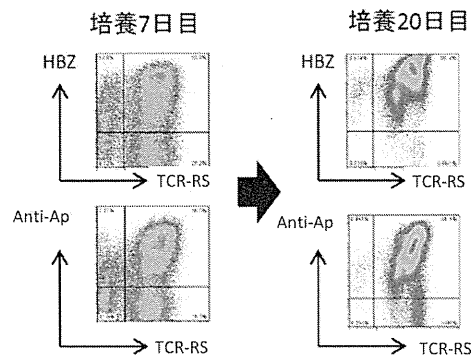


また、HBZ, TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子の 3 者を有する細胞は、培養開始早期には全体の 50%を占めるにすぎな

かったにも関わらず、培養開始 20 日後には 95%を占めるに至り、3 者が協調して強く増殖促進に働くことが明らかとなった (図 2)。

現在、HBZ, TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子の 3 遺伝子の *in vivo*での協調作用をマウス個体を用いて検討中であるが、3 者が協調して腫瘍化に働くとの予備的結果を得ている。

図 2



2. ATL 症例の一部で Notch1 遺伝子に変異が生じ、Notch1 経路が恒常的に活性化していることが知られている。そこで、次に HBZ, Tax, TCR-RS 遺伝子と Notch1 の組み合わせの T 細胞増殖への影響を検討した。INK4a/Arf^{-/-}マウス由来胎児肝臓細胞から *in vitro* で誘導した T 細胞に HBZ+Tax(ヒト CD8 細胞外ドメインでマーク)、TCR-RS 遺伝子(ヒト CD4 細胞外ドメインでマーク)、NOTCH1-ICN(GFP でマーク)を遺伝子導入して、*in vitro*での増殖態度を検討した。その結果、4 者を遺伝子導入した細胞は指数関数的に強い増殖能を示すことが明らかとなった。(Data not shown)。

D. 考察

本研究により、初代培養マウスT細胞にATL関連遺伝子を導入することにより、そのT細胞増殖への影響を効率よく検討することが可能となった。導入遺伝子と同時にGFPやヒトCD4・ヒトCD8をマーカーとして発現させているため、細胞間競合を容易に追跡可能である。本系の使用により、HBZ, TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子の3者が協調して強いT細胞増殖をもたらすことが初めて明らかとなった。この3遺伝子はATL患者検体で高発現あるいは活性化していることが知られていたが、その協調性については未検討であり、本システムはATL研究に有用な情報をもたらす可能性があることが示された。今後は、マウス個体での *in vivo* 解析を行い、さらにHTLV1ウイルスの主要ながん遺伝子であるTaxやHBZと、臨床検体のゲノム解析などで見出した付加的遺伝子異常をT細胞に再現することでATLの成立・進展機構を解析する計画である。

E. 結論

1. Ink4a/Arf-null 初代培養未分化造血細胞から誘導したT細胞にHBZ, TCR-RS 遺伝子, Anti-Ap 遺伝子を組み合わせて遺伝子導入することにより、T細胞に強い増殖能が付与されることが明らかとなった。
2. TCR-RS遺伝子とAnti-Ap遺伝子の2者の組み合わせではT細胞は増殖しないことから、HBZが重要な役割を果たしていることが示唆され、したがってATL特異的な現象であると考えられる。

3. NOTCH1の活性型変異もATLの一部症例で見いだされているが、本研究では活性型NOTCH1とTCR-RS遺伝子の2者のみで強いT細胞増殖が見られ、ここにHTLV1関連遺伝子であるHBZやTaxを追加しても相乗効果は観察されなかった。
4. 本システムを用いてATL特異的に機能する遺伝子の組み合わせを明らかにすることにより、ATLの成立・進展機構を明らかにし、治療戦略の開発に役立てたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. *Cancer Lett.* 333(1):47-55, 2013.
2. Arita K, Maeda-Kasugai Y, Ohshima K, Tsuzuki S, Suguro-Katayama M, Karube K, Yoshida N, Sugiyama T, Seto M.: Generation of mouse models of lymphoid neoplasm using retroviral gene transduction of *in vitro*-induced germinal center B

and T cells. *Exp Hematol.* 41(8):731-741, 2013.

3. Yamamoto K, Tsuzuki S, Minami Y, Yamamoto Y, Abe A, Ohshima K, Seto M, Naoe T.: Functionally deregulated AML1/RUNX1 cooperates with BCR-ABL to induce a blastic phase-like phenotype of chronic myelogenous leukemia in mice. *PLoS One.* 8(9):e74864, 2013.

2. 学会発表

1. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鵜池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に関与する. 2013. 5. 17. 第 53 回日本リンパ網内系学会, 京都, 口演
2. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鵜池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に関与する. 2013. 5. 18. 第 53 回日本リンパ網内系学会, 京都, ポスター (示説)
3. 都築 忍、片山幸、吉田稚明、在田幸太郎、大島孝一、瀬戸加大.: インビトロで誘導した T 細胞への遺伝子導入によるマウスリンパ腫モデル. 2013. 10. 05. 第 72 回日本癌学会学術

総会, 横浜, ポスター (示説)

4. 勝呂 幸、田川博之、竹内一郎、吉田 稚明、在田幸太郎、都築 忍、瀬戸 加大.: リンパ腫を形成するクローン細胞の多様性は、臨床病態を反映する. 2013. 10. 04. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, ポスター (示説)
5. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鵜池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に関与する. 2013. 10. 05. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 口演
6. 在田幸太郎、都築忍、大島孝一、杉山敏郎、瀬戸加大.: レトロウイルスによる正常 B 細胞への遺伝子導入を用いた B 細胞リンパ腫マウスモデル. 2013. 10. 04. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 口演
7. 都築 忍、瀬戸加大.: TEL (ETV6)-AML1 (RUNX1) は自己複製能を有する胎児プロ B 細胞を開始する. 2013. 10. 11. 第 75 回日本血液学会学術集会, 札幌, ポスター (示説)
8. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鵜池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に関与する. 2013. 10. 11.

第75回日本血液学会学術集会，札幌，
口演

9. 在田幸太郎、都築忍、大島孝一、杉山敏郎、瀬戸加大. :新規マウス胚中心由来B細胞リンパ腫モデル 2013. 10. 11. 第75回日本血液学会学術集会，札幌，口演

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

末梢性T細胞性リンパ腫 Tゾーン型の臨床病理的研究

研究分担者 大島孝一

久留米大学医学部・血液病理学

研究要旨

末梢性T細胞性リンパ腫 Tゾーン型(Peripheral T-cell lymphoma NOS T-zone variants: T zone-PTCL)は、末梢性T細胞性リンパ腫非特異型(Peripheral T-cell lymphoma NOS:PTCL-NOS)の3亜型の濾胞型、lymphoepithelioid型、Tゾーン型の1つとされている。今回 T zone-PTCLの臨床病理的検討を行った。リンパ腫細胞の多くは CD3, CD4 を発現し、CD5, CD7 の発現は欠損することが多くみられた。また、PTCL-NOS と比較すると緩徐な臨床経過をとることが多くみられた。

A. 研究目的

末梢性T細胞性リンパ腫 Tゾーン型(Peripheral T-cell lymphoma NOS T-zone variants: T zone-PTCL)は、末梢性T細胞性リンパ腫非特異型(Peripheral T-cell lymphoma NOS:PTCL-NOS)の3亜型の濾胞型、lymphoepithelioid型、Tゾーン型の1つとされている。しかしながら、症例も少なく十分な解析も行われていない。今回この点を踏まえ、臨床病理学的に、検討を行った。

B. 研究方法

A) 症例は、リンパ節において濾胞間にリンパ腫細胞の増殖を示すT zone-PTCL 36例で、形態学的基準としては、濾胞は残存し、濾胞間にリンパ腫細胞の増生が見られ

る。腫瘍細胞は、小型、中型で、核の多形性および不整形がやや目立ち、淡明細胞やReed-Sternberg様の細胞がときとして見られる。また高内皮細静脈の増生が目立ち、形質細胞、組織球反応、好酸球の炎症細胞も見られる。

B) 臨床所見；性別、年齢、B症状、節外病変、肝脾腫、皮疹、LDH高値、高 γ -globulin血症、Ann Arbor stage 分類、International prognostic index (IPI)、初期治療、治療効果、予後の検討を行った。

C) 形態的検索に加え、免疫染色として、CD3, CD4, CD8, CD5, CD7, CD20 などを行った。

D) クロナリテーの検索のため、TCR γ のPCRを行った。

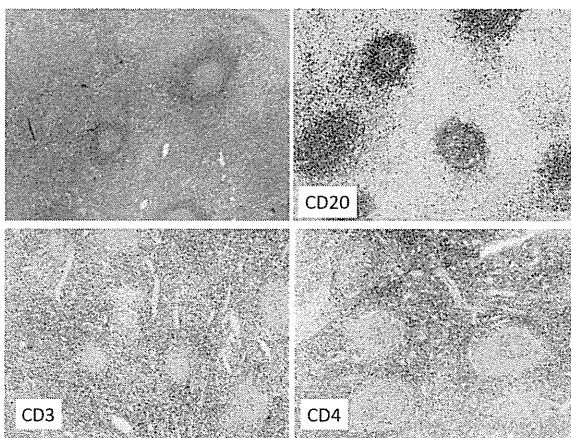
(倫理面への配慮)

本研究は久留米大学のヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

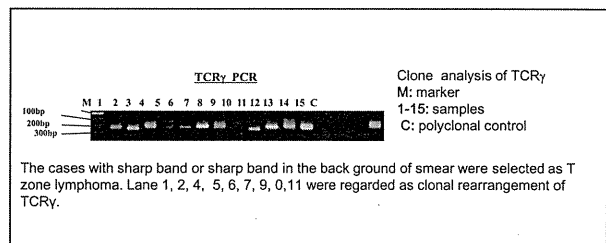
Median age at diagnosis	72(34-91)
Sex(M/F)	22/14
B symptom	4/20(20%)
Stage	
I	6(32%)
II	4(21%)
III	4(21%)
IV	5(25%)
Chemotherapy	12(60%)
No therapy	8(40%)
Follow up	Median 25 months
Alive	16/20(80%)
Dead	4/20(20%)

臨床的には、比較的高齢者（平均 72 才；34-91 才）に多く、病期は、I、II、III、IVとすべてに渡っており、6割のものが治療を受けていたが、4割のものは無治療で、2割のものが死亡していたが、8割のものは生存していた。

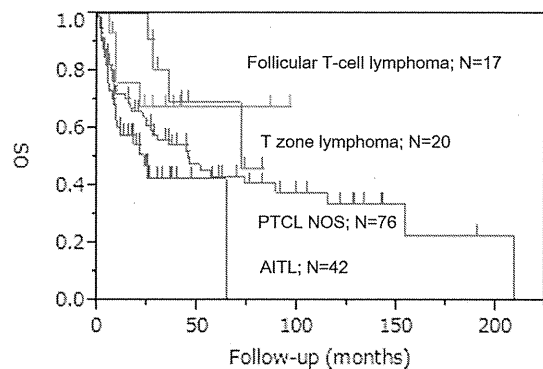


形態的には、濾胞は残存し、濾胞間にリンパ腫細胞の増生が見られる。腫瘍細胞は、小型、中型で、核の多形性および不

整形がやや目立ち、淡明細胞や Reed-Sternberg 様の細胞がときとして見られる。また高内皮細静脈の増生が目立ち、形質細胞、組織球反応、好酸球の炎症細胞も見られる。CD20 染色では、残存濾胞の形態が確認できる。また、リンパ腫細胞は、ほとんどの症例で CD3, CD4 陽性で、CD8 は陰性であった。また CD5, CD7 の発現がないものもみられた。



クロナリテーの検索のため、TCRγのPCRを行ったところ、7割の症例でクロナリテーの確認ができた。



生存曲線による検討の結果、T zone-PTCL は PTCL NOS や AITL よりも、濾胞型 PTCL と同様に緩徐は臨床経過をとることが示された。

D. 考察

末梢性 T 細胞性リンパ腫 T ゾーン型 (Peripheral T-cell lymphoma NOS T-zone variants: T zone-PTCL) の臨床病理的検討を行ったところ、リンパ腫細胞の多く

は CD3, CD4 を発現し、CD5, CD7 の発現は欠損することが多くみられ、これらは一般的 PTCL-NOS と同様であり、同一の起源が考えられるが、PTCL-NOS と比較すると緩徐な臨床経過をとることが多くみられたことより、PTCL-NOS の初期病変をみている可能性もあると考えられた。

E. 結論

T zone-PTCL は、PTCL-NOS と比較すると緩徐な臨床経過をとることが多くみられたことより、PTCL-NOS の初期病変をみている可能性もあるとも考えられるが、臨床経過が異なり、これらの疾患単位を認識することは、臨床的に重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe Y, Suefuji H, Hirose Y, Kaida H, Suzuki G, Uozumi J, Ogo E, Miura M, Takasu K, Miyazaki K, Nakahara K, Ishibashi M, Okamura T, Ohshima K, Hayabuchi N.: 18F-FDG uptake in primary gastric malignant lymphoma correlates with glucose transporter 1 expression and histologic malignant potential. *Int J Hematol*, 97: 43-49, 2013.
2. Ando M, Sato Y, Takata K, Nomoto J,

Nakamura S, Ohshima K, Takeuchi T, Orita Y, Kobayashi Y, Yoshino T.: A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas. *PLoS One*, 8: e56741, 2013.

3. Yoshida N, Nishikori M, Izumi T, Imaizumi Y, Sawayama Y, Niino D, Tashima M, Hoshi S, Ohshima K, Shimoyama M, Seto M, Tsukasaki K.: Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified of the thyroid with autoimmune thyroiditis. *Br J Haematol*, 161: 214-223, 2013.
4. Ishimura M, Yamamoto H, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Hara T.: A non-invasive diagnosis of histiocytic necrotizing lymphadenitis by means of gene expression profile analysis of peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Immunol*, 33: 1018-1026, 2013.
5. Niino D, Tsuchiya T, Tomonaga M, Miyazaki Y, Ohshima K.: Clinicopathological features of acute megakaryoblastic leukaemia: Relationship between fibrosis and platelet-derived growth factor. *Pathol Int*, 63: 141-149, 2013.

6. Arita K, Maeda-Kasugai Y, Ohshima K, Tsuzuki S, Suguro-Katayama M, Karube K, Yoshida N, Sugiyama T, Seto M.: Generation of mouse models of lymphoid neoplasm using retroviral gene transduction of in vitro-induced germinal center B and T cells. *Exp Hematol*, 41: 731-741, 2013.
 7. Kimura Y, Arakawa F, Kiyasu J, Miyoshi H, Yoshida M, Ichikawa A, Niino D, Sugita Y, Okamura T, Doi A, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Ohshima K.: The Wnt signaling pathway and mitotic regulators in the initiation and evolution of mantle cell lymphoma: Gene expression analysis. *Int J Oncol*, 43: 457-468, 2013.
 8. Ichikawa A, Arakawa F, Kiyasu J, Sato K, Miyoshi H, Niino D, Kimura Y, Takeuchi M, Yoshida M, Ishibashi Y, Nakashima S, Sugita Y, Miura O, Ohshima K.: Methotrexate/iatrogenic lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis: histology, Epstein-Barr virus, and clonality are important predictors of disease progression and regression. *Eur J Haematol*, 91: 20-28, 2013.
 9. Teshima K, Nara M, Watanabe A, Ito M, Ikeda S, Hatano Y, Oshima K, Seto M, Sawada K, Tagawa H.: Dysregulation of BMI1 and microRNA-16 collaborate to enhance an anti-apoptotic potential in the side population of refractory mantle cell lymphoma. *Oncogene*, 2013 May 20, doi: 10.1038/onc.2013.177. [Epub ahead of print]
 10. Kim SW, Yoon SS, Suzuki R, Matsuno Y, Yi HG, Yoshida T, Imamura M, Wake A, Miura K, Hino M, Ishikawa T, Kim JS, Maeda Y, Lee JJ, Kang HJ, Lee HS, Lee JH, Izutsu K, Fukuda T, Kim CW, Yoshino T, Ohshima K, Nakamura S, Nagafuji K, Suzumiya J, Harada M, Kim CS.: Comparison of outcomes between autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for peripheral T-cell lymphomas with central review of pathology. *Leukemia*, 27: 1394-1397, 2013.
2. 学会発表
1. Clinicopathological analysis of Peripheral T Cell lymphoma T zone variant. Ying Guo, Hiroaki Miyoshi, Fumiko Arakawa, Daisuke Niino, Koichi Ohshima 第53回日本リンパ網内系学会総会、京都、2013年5月18日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告書

ATLの腫瘍化並びに急性転化、病型変化に関連する遺伝子群の探索と
病態への関与の研究

研究分担者：宇都宮 與

公益財団法人慈愛会 今村病院分院 院長

研究要旨

indolent type の ATL の急性転化の遺伝子変化を探索するためには indolent type の ATL の実態を把握する必要がある。当院で治療や経過観察を行っている ATL 患者の本年度の実態を調査した。本年度の ATL の初診例は 15 名（急性型 8 名、リンパ腫型 3 名、慢性型 1 名、くすぶり型 3 名）であった。経過観察を行っている未治療 ATL 患者は 14 名（慢性型 4 名、くすぶり型 10 名）で、すべて indolent type であった。本年度初診の急性型 ATL 8 名中 2 名が急性転化例で、そのうち 1 名がくすぶり型からであり、1 名が慢性型からであった。経過観察中の 10 名のくすぶり型のうち 2 名が慢性型へ移行した。また、予後不良因子を有する慢性型 ATL で自然寛解し、長期間 ATL の所見は認められず、治癒と思われる例も経験した。indolent type の ATL は早期に急性転化を起こす頻度は高くはないが、一定の頻度で急性転化し、予後不良であるので、急性転化のメカニズム解明のために臨床的なフォローアップの基盤作りが必要である。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (adult T-cell leukemia-lymphoma: ATL) は、原因ウイルスであるヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (human T cell leukemia virus type I: HTLV-1) を保有する HTLV-1 キャリアから長期の潜伏期間の後、一部が発症する。臨床的には、急性型、リンパ腫型の aggressive type と慢性型、くすぶ

り型の indolent type がある。この indolent type から aggressive type の急性型へ急性転化することがあるが、そのメカニズムや病型変化に伴う ATL 細胞の遺伝子変化については明らかにされていない。

HTLV-1 キャリアから ATL が発症するメカニズムは重要である。indolent type からの急性転化における遺伝子変化の解

析は、急性転化のメカニズムのみでなく、HTLV-1 キャリアからの ATL 発症のメカニズム解明にも結び付く可能性を秘めており重要である。

今年度、当院を受診した ATL と未治療で経過観察している ATL 症例について臨床的実態について調査を行った。

B. 研究方法

対象は2013年4月1日から2013年11月30日までに当院血液外来を受診した未治療 ATL 患者について臨床的背景と臨床病型変化について検討を加えた。

初診ATL患者、経過観察を行っている未治療ATL患者について背景因子として年齢、性別、臨床病型などを検討した。また、経過中の病型変化についても検討した。

(倫理面への配慮)

ATL 患者は indolent type といえ急性転化すると極めて予後不良であり、不安や悩みが多く、心理面には十分配慮して説明と同意取得を行った。

C. 研究結果

研究期間中に当院を受診した ATL 初診例は、15名で、男性6名、女性9名、年齢中央値63歳(46~84歳)であった。臨床病型の内訳は、急性型8名(うち1名がくすぶり型からの急性転化例、1名が慢性型からの急性転化例)、リンパ腫型3名、慢性型1名、くすぶり型3名で、indolent type は少なく、特に慢性型は1名のみであった。

すでに経過観察を行っている未治療

ATL は14名で、男性6名、女性8名、年齢中央値67.5歳(51~85歳)、慢性型4名、くすぶり型10名で、すべてが indolent type であった。くすぶり型10例のうち2例が慢性型に移行したが、急性転化例はみられなかった。

慢性型の1名は、14年前から経過観察を行っているが、予後不良因子を有し、自然寛解にて治癒したと考えられる非常に興味深い例であり、症例提示する。

症例：70歳、女性、主訴は白血球数増加。初診時、白血球数 $36400/\text{mm}^3$ (ATL細胞55%)、LDH 568 IU/L、血清抗HTLV-1抗体陽性、HTLV-1プロウイルスDNA検査(サザンブロット検査)でモノクローナルな組み込みを認めた。異常リンパ球(ATL細胞)のマーカー検査では、CD2+CD3+CD4+CD25+であった。以上より予後不良因子を有する慢性型ATLと診断した。予後不良因子を有するものの自覚症状は全くなく、検査中に白血球数の減少傾向を認めたため外来経過観察とした。その後、徐々に白血球数は減少し、白血球分画検査でもATL細胞は減少を続け、約6年後にはATL細胞は末梢血からほぼ消失した。診断から14年後の現在では、末梢血中のHTLV-1プロウイルス定量ではキャリアレベルに安定している。寛解持続中の末梢血中のTax特異的細胞傷害性T細胞(CTL)の解析ではテトラマー法にて、4.5%の陽性細胞を認めた。

D. 考察

当科における今年度のATL初診例と通院中の未治療ATL例について検討を行っ

た。初診 ATL の臨床病型では、aggressive type に比し、indolent type は少なく、特に慢性型の患者は少なかった。

経過観察を行っている indolent type からの急性転化例はみられなかったが、今年度初診例の中には急性転化例が 2 例（1 例はくすぶり型から、1 例は慢性型から）みられた。

短期の経過観察では急性転化例は多いとはいえないが、くすぶり型から慢性型への移行、くすぶり型や慢性型からの急性転化は一定の頻度で認められる。一般に急性転化例は急激に進行し、薬剤にも抵抗性を示し予後不良であることが多く、これらの遺伝子変化や進展のメカニズムを解明することは早期発見や予防・治療に寄与する可能性がある。

一方、慢性型 ATL では、予後不良因子を有していても自然に寛解し、治癒と思われるような症例も極めてまれではあるが、存在する。今回提示した症例についての ATL 細胞の遺伝子変化や免疫の役割を詳細には検査できなかったが、寛解後の末梢血中に Tax 特異的 CTL 細胞が検出できたことは、腫瘍免疫の関与した可能性が十分考えられる。また、ATL 細胞のゲノム異常と免疫の関係が明らかにされると ATL の発症予防や治療法の開発にもつながると考えられる。

いずれにしても、くすぶり型や慢性型などの indolent type の患者を遺伝子変化を含めてフォローアップすることは複雑な ATL の病態解明に重要である。

E. 結論

indolent ATL は、早期に急性転化を高頻度に起こすわけではないので、粘り強く経過観察し、病態を解明する研究体制作りが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Eto T, Koh H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M.: Identification of an HLA-DRB1*0101-restricted dominant epitope of Tax-specific CD4+ T-cells augmenting in vitro CTL expression in ATL patients after allo-HSCT. *J Immunol* 190: 4382-4392, 2013.
2. Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A.: Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hepatol Res*, 44: 354-357, 2014.
3. Asanuma S, Yamagishi M, Kawanami K, Nakano K, Sato-Otsubo A, Muto S,

- Sanada M, Yamochi T, Kobayashi S, Utsunomiya A, Iwanaga M, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T.: Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promote T-cell growth. *Cancer Sci*, 104: 1097-1106, 2013.
4. Kinpara S, Kijiyama M, Takamori A, Hasegawa A, Sasada A, Masuda T, Tanaka Y, Utsunomiya A, Kannagi M.: Interferon- α (IFN- α) suppresses human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) gene expression and cell cycling, while IFN- α combined with zidovudin induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1- infected cells. *Retrovirology*, 10: 52, 2013.
 5. Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Nakamura Y, Nakagawa H, Yamano Y, Ueda K.: Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. *Blood*, 121: 4340-4347, 2013.
 6. Ando H, Sato T, Tomaru U, Yoshida M, Utsunomiya A, Yamauchi J, Araya N, Yagishita N, Coler-Reilly A, Shimizu Y, Yudo K, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Yamano Y.: Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. *Brain*, 136: 2876-2887, 2013.
 7. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A.: Impact of GVHD on allogeneic HCT for adult T-cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant* 19: 1731-1739, 2013.
 8. Chihara D, Ito H, Matsuda T, Katanoda K, Shibata A, Taniguchi S, Utsunomiya A, Sobue T, Matsuo K.: Association between decreasing trend in the mortality of adult T-cell leukemia/ lymphoma and allogeneic hematopoietic stem cell transplants in Japan: Analysis of Japanese vital statistics and Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Blood Cancer Journal*, 3:e159, 2013.
 9. Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, Yamauchi J, Inoue E, Ueno T, Hasegawa Y, Nishioka K, Nakajima T, Jacobson S, Izumo S, Yamano Y. CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/

tropical spastic paraparesis. PLoS
Negl Trop Dis, 7: e2479, 2013

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（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

ATL の腫瘍化並びに急性転化、病型変化に関連する
遺伝子群の探索と病態への関与の研究

研究分担者 今泉 芳孝
長崎大学病院 血液内科 助教

研究要旨

成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL) の診療においては、診断後病型分類を行いその結果に従い治療方針を決定する。急性型やリンパ腫型、予後不良因子を有する慢性型 ATL は aggressive ATL と総称され化学療法の適応となる。Aggressive ATL に対する化学療法としては、臨床試験の結果 VCAP-AMP-VECP 療法の有用性が報告されており、現在標準治療の一つと考えられている。しかし、実臨床におけるその有用性については十分な検討はなされていない。今回、1994 年から 2012 年の間に当科で aggressive ATL と診断し VCAP-AMP-VECP 療法を施行した 53 症例について治療成績を検討した。完全奏効割合 (CR) 28%、部分奏効割合 (PR) 42%、全奏効割合 (ORR) 70%、生存期間中央値 (MST) 14.8 ヶ月、3 年全生存割合 (3yOS) 29.6%と、既報の臨床試験の成績とほぼ同等の成績であった。以上より、VCAP-AMP-VECP 療法は実臨床においても有用な治療であるが、一方で、未だに治療成績は十分とはいえないことが確認された。治療成績の改善のためには、aggressive ATL に特徴的なゲノム異常領域および責任遺伝子を見だし、分子標的治療をはじめとした新規治療を開発する必要がある。

A. 研究目的

成人 T細胞白血病リンパ腫 (ATL) は human T-lymphotropic virus type-I (HTLV-1) によって引き起こされる末梢性T細胞腫瘍である。HTLV-1キャリアにおいて、細胞病理学的に末梢性T細胞腫瘍と診断されれば臨床的にはATLと診断される。診断後は、臨床情報

に基づき病型分類を行い治療方針を決定する。急性型、リンパ腫型、予後不良因子 (血清LDH高値、BUN高値、アルブミン低値のいずれか) を有する慢性型はaggressive ATLと総称され、早期に化学療法の対象とされる。一方で、くすぶり型や予後不良因子を有さない慢性型は、indolent ATLと総称さ

れ、診断後早期の全身化学療法の対象とはされず、急性転化を来すまでは無治療経過観察とされる。Aggressive ATLに対する治療としては、通常非ホジキンリンパ腫に対する治療では効果が不十分であることから、より強度を高めた治療法として、VCAP-AMP-VECP療法が開発された。臨床試験を通じてその有用性が報告され、VCAP-AMP-VECP療法は、現在 aggressive ATLに対する標準的な治療法の一つと考えられている。また、ATLに対する新規治療薬として抗CCR4抗体医薬であるモガムリズマブが開発され、再発症例に対する有用性が報告されている。モガムリズマブは、初発ATLに対する使用および化学療法との併用についても検討されており、VCAP-AMP-VECP療法との併用療法の臨床試験が行われている。しかし、VCAP-AMP-VECP療法の治療効果は未だ十分とは言いがたく、一方で、非ホジキンリンパ腫の標準治療であるCHOP療法と比較すると強力な治療であり、血液毒性をはじめとした有害事象の増加も懸念されており、実臨床における有用性については十分に評価されているとは言いがたい。そこで、検体を収集する一方で、当科における治療成績について後方視的解析を行い、実臨床におけるVCAP-AMP-VECP療法の有用性を評価した。

B. 研究方法

1994年から2012年の間に当科で診療した aggressive ATL症例212例のうち、同種移植施行例、データ欠損例、化学療法未施行例を除外した150症例を解析対象とした。

C. 研究結果

VCAP-AMP-VECP療法を施行された症例を53症例認めた。同治療の施行が困難だった理由としては、年齢(47%)、全身状態不良(23%)、などが主な理由であった。

VCAP-AMP-VECP療法を施行された症例の年齢の中央値は61歳、病型は急性型39例、リンパ腫型11例、予後不良因子を有する慢性型3例であった。治療成績は、CR 28%、PR 42%、ORR 70%、MST 14.8ヶ月、3yOS 29.6%と、既報の臨床試験の成績と比較し、CR割合が低かったものの、ほぼ同等の成績であった。治療の完遂率は34%と、約2/3の症例では治療が途中で打ち切られており、増悪・再発(26%)、骨髄抑制(22%)などが主な理由であった。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言および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。

D. 考察

実臨床においても、VCAP-AMP-VECP療法に対して、臨床試験とほぼ同等の成績が確認された。しかし、約30%の症例では奏効がえられず、半数以上の症例が治療開始から1年半以内に亡くなっており、未だに十分な治療成績が得られているとは言いがたい。一旦治療効果を認めても、治療中に増悪・再発する症例や、骨髄抑制のため治療継続が困難な症例も一定の割合で存在することから、さらなる治療法の開発が必要と考えられる。今回解析対象とした症例のうち、

VCAP-AMP-VECP療法が施行出来たのは約1/3の症例に過ぎず、年齢やPerformance status不良などのために、強力な治療の対象となり得ない症例が少なからず存在することが示された。以上の結果は、治療強度の強化により治療成績を改善することは困難なことを示しており、分子標的の同定などを介して、より疾患や病態に特異的な治療方法の開発が必要と考えられた。

E. 結論

ATL のゲノム異常を対象とした当研究班の解析結果により、ATL の病勢・病態に特異的な遺伝子異常が同定され、aggressive ATL に対する分子標的治療の開発につながる知見が得られることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Taguchi M, Imaizumi Y, Taguchi J, Imanishi D, Sasaki D, Hasegawa H, Tsushima H, Hata T, Miyazaki Y.: Transient proliferation of donor-derived ATL cell-like lymphocytes early after allogeneic stem cell transplantation in an adult T-cell leukemia/lymphoma patient. *Blood*, 121: 4428-4430, 2013.

2. Fukushima T, Itonaga H, Moriuchi Y, Yoshida S, Taguchi J, Imaizumi Y, Imanishi D, Tsushima H, Sawayama Y, Matsuo E, Hata T, Miyazaki Y.: Feasibility of cord blood transplantation in chemosensitive adult T-cell leukemia/lymphoma: a retrospective analysis of the Nagasaki Transplantation Network. *Int J Hematol*, 97: 485-490, 2013.

3. Itonaga H, Taguchi J, Fukushima T, Tsushima H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Honda S, Miyazaki Y.: Distinct clinical features of infectious complications in adult T cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis in the Nagasaki transplant group. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19: 607-615, 2013.

2. 学会発表

1. Yoshitaka Imaizumi, Michinori Ogura, Naokuni Uike, Norio Asou, Atae Utsunomiya, Toshiki Uchida, Tomohiro Aoki, Kunihiro Tsukasaki, Jun Taguchi, Ilseung Choi, Dai Maruyama, Kisato Nosaka, Nianhang Chen, Tetsuhiro Shiota and Kensei Tobinai : Phase I Dose-Escalation

Study of Lenalidomide in Relapsed Patients with ATL or PTCL(CC-5013-ATLL-001). 第75回日本血液学会学術総会、札幌、2012年10月13日

2. Hiroaki Taniguchi, Yoshitaka Imaizumi, Makiko Horai, Masataka Taguchi, Junya Makiyama, Shinya Sato, Koji Ando, Yasushi Sawayama, Yuji Moriwaki, Emi Matsuo, Daisuke Imanishi, Jun Taguchi, Hideki Tsushima, Tomoko Hata, Hiroo Hasegawa, Shinichiro Yoshida, Yuki Yoshi Moriuchi, Koichi Oshima, Yasushi Miyazaki. : Mogamulizumab in clinical practice for relapsed/refractory adult T-cell leukemia-lymphoma. 第75回日本血液学会学術総会、札幌、2012年10月12日
3. Junya Makiyama, Yoshitaka Imaizumi, Hiroaki Taniguchi, Yasushi Sawayama, Daisuke Imanishi, Jun Taguchi, Hideaki Tsushima, Tomoko Hata, Kunihiro Tsukasaki, Yasushi Miyazaki. : Re-evaluation of VCAP-AMP-VECP in clinical practice for aggressive adult T-cell leukemia-lymphoma. 第75回日本血液学会学術総会、札幌、2012年10月11日
4. Noriaki Yoshida, Kennosuke Karube, Atea Utsunomiya, Kunihiro

Tsukasaki, Yoshitaka Imaizumi, Naoya Taira, Naokuni Uike, Akira Umino, Kotaro Arita, Miyuki Katayama, Hsinobu Tsuzuki, Koichi Ohshima, Masao Seto. : Alterations of cell cycle-related genes are involved in transformation of chronic ATL. 第75回日本血液学会学術総会、札幌、2012年10月11日

5. 牧山純也、今泉芳孝、谷口広明、森脇裕司、澤山靖、今西大介、田口潤、對馬秀樹、波多智子、塚崎邦弘、宮崎泰司、当科における高齢者成人T細胞白血病・リンパ腫の診療実態と治療成績. 第53回日本リンパ網内系学会総会 : 2013年5月18日、京都
6. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鵜池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大、Cell cycle関連遺伝子の異常は慢性型ATLLの急性転化に関与する. 第53回日本リンパ網内系学会総会 : 2013年5月18日、京都

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.	Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate.	Cancer Lett	333	47-55	2013
Arita K, Maeda-Kasugai Y, Ohshima K, Tsuzuki S, Suguro-Katayama M, Karube K, Yoshida N, Sugiyama T, Seto M.	Generation of mouse models of lymphoid neoplasm using retroviral gene transduction of in vitro-induced germinal center B and T cells.	Exp Hematol	41	731-741	2013
Yamamoto K, Tsuzuki S, Minami Y, Yamamoto Y, Abe A, Ohshima K, Seto M, Naoe T.	Functionally deregulated AML1/RUNX1 cooperates with BCR-ABL to induce a blastic phase-like phenotype of chronic myelogenous leukemia in mice.	PLoS One	8	e74864	2013
Yoshida N, Oda M, Kuroda Y, Katayama Y, Okikawa Y, Masunari T, Fujiwara M, Takashi Nishisaka, Sasaki N, Sadahira Y, Mihara K, Asaoku K, Matsui H, Seto M, Kimura A, Arihiro K, Sakai A.	Clinical significance of sIL-2R levels in B-cell lymphomas.	PLoS One	8	e78730	2013
Watanabe Y, Suefuji H, Hirose Y, Kaida H, Suzuki G, Uozumi J, Ogo E, Miura M, Takasu K, Miyazaki K, Nakahara K, Ishibashi M, Okamura T, Ohshima K, Hayabuchi N.	18F-FDG uptake in primary gastric malignant lymphoma correlates with glucose transporter 1 expression and histologic malignant potential.	Int J Hematol	97	43-49	2013
Ando M, Sato Y, Takata K, Nomoto J, Nakamura S, Ohshima K, Takeuchi T, Orita Y, Kobayashi Y, Yoshino T.	A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas.	PLoS One,	8	e56741	2013
Yoshida N, Nishikori M, Izumi T, Imaizumi Y, Sawayama Y, Niino D, Tashima M, Hoshi S, Ohshima K, Shimoyama M, Seto M, Tsukasaki K.	Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified of the thyroid with autoimmune thyroiditis.	Br J Haematol	161	214-223	2013
Ishimura M, Yamamoto H, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Hara T.	A non-invasive diagnosis of histiocytic necrotizing lymphadenitis by means of gene expression profile analysis of peripheral blood mononuclear cells.	J Clin Immunol	33	1018-1026	2013

Niino D, Tsuchiya T, Tomonaga M, Miyazaki Y, Ohshima K.	Clinicopathological features of acute megakaryoblastic leukaemia: Relationship between fibrosis and platelet-derived growth factor.	Pathol Int	63	141-149	2013
Arita K, Maeda-Kasugai Y, Ohshima K, Tsuzuki S, Suguro-Katayama M, Karube K, Yoshida N, Sugiyama T, Seto M.	Generation of mouse models of lymphoid neoplasm using retroviral gene transduction of in vitro-induced germinal center B and T cells.	Exp Hematol	41	731-741	2013
Kimura Y, Arakawa F, Kiyasu J, Miyoshi H, Yoshida M, Ichikawa A, Niino D, Sugita Y, Okamura T, Doi A, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Ohshima K.	The Wnt signaling pathway and mitotic regulators in the initiation and evolution of mantle cell lymphoma: Gene expression analysis.	Int J Oncol	43	457-468	2013
Ichikawa A, Arakawa F, Kiyasu J, Sato K, Miyoshi H, Niino D, Kimura Y, Takeuchi M, Yoshida M, Ishibashi Y, Nakashima S, Sugita Y, Miura O, Ohshima K.	Methotrexate/iatrogenic lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis: histology, Epstein-Barr virus, and clonality are important predictors of disease progression and regression.	Eur J Haematol	91	20-28	2013
Teshima K, Nara M, Watanabe A, Ito M, Ikeda S, Hatano Y, Oshima K, Seto M, Sawada K, Tagawa H.	Dysregulation of BMI1 and microRNA-16 collaborate to enhance an anti-apoptotic potential in the side population of refractory mantle cell lymphoma.	Oncogene	[Epub ahead of print]	doi: 10.1038/onc.2013.177.	2013
Kim SW, Yoon SS, Suzuki R, Matsuno Y, Yi HG, Yoshida T, Imamura M, Wake A, Miura K, Hino M, Ishikawa T, Kim JS, Maeda Y, Lee JJ, Kang HJ, Lee HS, Lee JH, Izutsu K, Fukuda T, Kim CW, Yoshino T, Ohshima K, Nakamura S, Nagafuji K, Suzumiya J, Harada M, Kim CS.	Comparison of outcomes between autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for peripheral T-cell lymphomas with central review of pathology.	Leukemia	27	1394-1397	2013
Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Eto T, Koh H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M.	Identification of an HLA-DRB1*0101-restricted dominant epitope of Tax-specific CD4+ T-cells augmenting in vitro CTL expression in ATL patients after allo-HSCT.	J Immunol	190	4382-4392	2013
Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A.	Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab.	Hepatol Res	44	354-357	2014