

臨床試験、発症ハイリスクコホート、ゲノム解析を統合したアプローチによる
ATL標準治療法の開発に関する研究

担当責任者 福島卓也 琉球大学医学部 教授

研究要旨：くすぶり型・予後不良因子を有していない慢性型成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATL) 患者に対してインターフェロン(IFN)/ジドブジン(AZT) 療法を行うことにより、急性型あるいはリンパ腫型 ATL への進行を抑制し、予後の改善につながるかを検証するための多施設共同臨床試験のプロトコール作成と先進医療 B への申請を行い、承認を得た。現在国立がん研究センター中央病院、東病院で先行して施行された 2 例で安全性が確認され、施設拡大の承認が得られた。琉球大学は臨床研究倫理審査委員会、先進医療委員会承認が得られており、先進医療 B 施行施設として認められ次第、患者登録開始する。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATL)のうち、くすぶり型および予後不良因子を有していない慢性型のいわゆる indolent ATL に対するインターフェロン(IFN)とアザシチジン(AZT)との併用療法の有効性と安全性を検証する。

B. 研究方法

Indolent ATL に対する IFN/AZT 併用療法の有用性を検証するために、無治療経過観察との多施設共同無作為化比較臨床第 III 相臨床試験を立案・作成した。本研究は先進医療 B 申請・承認を経て、医師主導で遂行する。

(倫理面への配慮)

臨床試験のプロトコール作成に当たっては、ヘルシンキ宣言および「臨床研究に関する倫理指針」に従う。本臨床試験は琉球大学臨床研究倫理委員会にて承認を得ている。試験について患者には文書による説明と同意を得る。また、臨床試験において患者検体を使用する場合は、事前に説明と同意を行う。

C. 研究結果

日本臨床腫瘍研究グループ (JCOG) を母体とする多施設共同臨床第 III 相試験 (JCOG1111)の作成に事務局として参加した。国立がん研究センター東病院、国立がん研究センター中央病院において先行して行われた 2 例について安全性が確認され、他の JCOG 参加施設に拡大していくことになった。琉球大学においても臨床試験が臨床研究倫理審査委員会および先進医療委員会の承認を得ており、現在先進医療 B 承認施設を得るための申請準備中である。承認が得られ次第症例登録を開始する。さらに附随研究として、登録症例からけた検体で HTLV-1 キャリア細胞と ATL 細胞との中間にある細胞群を同定するための HAS2G 法を用いたバイオマーカー探索を行うため、現在研究プロトコールを作成している。

D. 考察

本研究は先進医療 B を用いた臨床試験として、これから全国の施設に拡大して症例登録が加速していくことが期待される。Indolent ATL に対する IFN/AZT 併用療法は欧米において高い有効性が報告されているが、前向き臨床試験として検証されたも

のではない。世界で最も ATL 発症のおおい本邦にておいて行われる本臨床試験にかかる期待は大きいと考える。IFN/AZT 併用療法の有用性について真の結論が得られると思われる。また先進医療制度 B を用いた医師主導臨床試験として、他の臨床試験へ与える影響も大きいと思われる。

E. 結論

先進医療制度 B の下、医師主導で遂行される臨床試験としてこれから症例登録を加速させていく。Indolent ATL に対する IFN/AZT 併用療法の有用性の検証とともに、医師主導研究の体制の確立が期待されており、今後も臨床試験の遂行に邁進する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Itonaga H, Sawayama Y, Taguchi J, Honda S, Taniguchi H, Makiyama J, Matsuo E, Sato S, Ando K, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Fukushima T, Miyazaki Y. Characteristic patterns of relapse after allogeneic hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia-lymphoma: a comparative study of recurrent lesions after transplantation and chemotherapy by the Nagasaki Transplant Group. Bone Marrow Transplant, in press.
2. Morichika K, Tomoyose T, Nishi Y, Nakachi S, Fukushima T, Masuzaki H. The intractable intra-abdominal hemorrhage with unknown etiology in a patient with severe hemophilia A. Am J Emerg Med, 33 (1): 129.e1-3, 2015.
3. Morichika K, Nakachi S, Tomoyose T, Shimabukuro N, Tamaki K, Tedokon I, Nishi Y, Hyakuna N, Fukushima T, Masuzaki H. A rare case of septic pulmonary embolism caused by infection-associated catheter removal in a patient with Hodgkin's lymphoma. Intern Med, 53 (11): 1215-1220, 2014
4. Fukushima T, Nomura S, Shimoyama M, Shibata T, Imaizumi Y, Moriuchi Y, Tomoyose T, Uozumi K, Kobayashi Y, Fukushima N, Utsunomiya A, Tara M, Nosaka K, Hidaka M, Uike N, Yoshida S, Tamura K, Ishitsuka K, Kurosawa M, Nakata M, Fukuda H, Hotta T, Tobinai K, Tsukasaki K. Japan Clinical Oncology Group (JCOG) prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma (JCOG0902A). Br J Haematol, 166 (5): 739-748, 2014.
5. Itonaga H, Imanishi D, Wong YF, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Sasaki D, Tsuruda K, Hasegawa H, Imaizumi Y, Taguchi J, Tsushima H, Yoshida S, Fukushima T, Hata T, Moriuchi Y, Yanagihara K, Miyazaki Y. Expression of myeloperoxidase in acute myeloid leukemia blasts mirrors the distinct DNA methylation pattern involving the downregulation of DNA methyltransferase DNMT3B. Leukemia, 28 (7): 1459-1466, 2014.
6. Itonaga H, Tsushima H, Imanishi D, Hata T, Doi Y, Mori S, Sasaki D, Hasegawa H, Matsuo E, Nakashima J, Kato T, Horai M, Taguchi M, Matsu

o M, Taniguchi H, Makiyama J, Sato S, Horio K, Ando K, Moriwaki Y, Sawayama Y, Ogawa D, Yamasaki R, Takasaki Y, Imaizumi Y, Taguchi J, Kawaguchi Y, Yoshida S, Joh T, Moriuchi Y, Nonaka H, Soda H, Fukushima T, Nagai K, Kamihira S, Tomonaga M, Yanagihara K, Miyazaki Y. Molecular analysis of the BCR-ABL1 kinase domain in chronic-phase chronic myelogenous leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors in practice: study by the Nagasaki CML Study Group. *Leuk Res*, 38 (1): 76-83, 2014.

和文雑誌

1. 島袋奈津紀、西由希子、仲地佐和子、玉城啓太、手登根伊織、森近一穂、友寄毅昭、福島卓也、益崎裕章：橋本病と成人T細胞白血病リンパ腫（くすぶり型）を合併したループスアンチコアグラント低プロトロンビン血症症候群の1例。日本内科学会雑誌 103(8):1935-8, 2014.
2. 福島卓也：【私のこの一枚（121）】同種造血幹細胞移植後トキソプラズマ脳髄膜炎。血液フロンティア24: 973-976, 2014
3. 福島卓也：成人T細胞白血病・リンパ腫の治療。臨床血液 55 (10): 1952-1961, 2014

英文書籍

なし

和文書籍

1. 福島卓也：「EBM 血液疾患の治療 2015-2016」III リンパ系腫瘍, F. 成人T細胞白血病／リンパ腫(ATL), 2. ATL に対する造血幹細胞移植の現状。中外医学社, p314-318, 2014

2. 福島卓也：「今日の治療指針 私はこう治療している TODAY'S THERAPY 2015」10. 血液疾患 成人 T 細胞白血病・リンパ腫。医学書院, p 662-664, 2015

2. 学会発表

1. Nishi Y, Fukushima T, Nomura S, Tomoyose T, Nakachi S, Morichika K, Tedokon I, Tamaki K, Shimabukuro N, Taira N, Miyagi T, Kari mata K, Yohama M, Yamanoha A, Tamaki K, Hayashi M, Arakaki H, Uchihara J, Ooshiro K, Asakura Y, Tanaka Y, Masuzaki H: Clinical features of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) in Okinawa Prefecture. 第76回日本血液学会学術総会, 大阪, 2014年10月31日～11月2日。(口演)
2. 福島卓也: 教育講演：成人T細胞白血病・リンパ腫の治療。第76回日本血液学会学術総会, 大阪, 2014年10月31日～11月2日。(口演)
3. 崎浜秀悟、宮良恵美、宮城敬、平良直也、田中勇悦、福島卓也: 成人T細胞白血病・リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植後、キメラ状態が持続している症例。第49回日臨技九州支部医学検査学会, 沖縄, 2014年11月1日～2日。(口演)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(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

厚生労働省科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目：臨床試験）

臨床試験、発症ハイリスクコホート、ゲノム解析を統合したアプローチによる
ATL標準治療法の開発に関する研究

担当責任者 今泉 芳孝 長崎大学病院 血液内科 講師

研究要旨：ATL に対するインターフェロン α (IFN α) とジドブジン (AZT) の併用療法と無治療経過観察のランダム化比較試験で用いられる基準に関して、慢性型 ATL の予後不要因子 (BUN 上昇、LDH 上昇、アルブミン低下) について、自験例で後方視的な検討を行った。2010年1月1日から2013年12月31日までに新規に診断された慢性型13例の検討では、基準変更に伴い、予後不良因子を有さない慢性型が、施設基準に従うと5例であったが、試験基準値では9例と、適格症例の増加が期待された。一方で、基準値の変更が、予後に与える影響については、今後慎重に評価していく必要があることが示唆された。

A. 研究目的

当研究班で実施中の、ATL に対するインターフェロン α (IFN α) とジドブジン (AZT) の併用療法と無治療経過観察のランダム化比較試験では、症候を有するくすり型と共に、予後不良因子を有さない慢性型の症例が適格とされている。慢性型 ATL の予後不要因子としては、BUN 上昇、LDH 上昇、アルブミン低下の1つ以上を有することが挙げられるが、本試験では検査所見の判定を、これまでの施設基準から共用基準に基づいた基準 (試験基準) に変更した。今回は、この基準変更が症例登録および臨床経過におよぼす影響について、自験例を用いた予備的な検討を行った。

B. 研究方法

2010年1月1日から2013年12月31日までに当院を初回受診し慢性型ATLと診断された症例を対象とした。施設基準と共用規準をもとにした本試験の基準を用いて予後不良因子を評価した。診断後、2015年1月時点までの経過についても併せて後方視的な検討を行った。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言に従って研究を実施した。

C. 研究結果

該当期間の新規受診症例は、慢性型13例であった。性別は男性7名、女性6名、年齢の中央値は64歳(43歳~85歳)であった。

施設基準に基づく検討では、8症例で初診時に予後不良因子を有していた(LDH6例、アルブミン3例、BUN1例：重複あり)。そのうち5例では、病状の悪化に伴い化学療法が施行され、6例は現病の増悪もしくは治療関連毒性のため死亡していた。残りの2症例では、それぞれ初診から1年9ヶ月、および3年9ヶ月時点では、依然として予後不良因子を有するものの病勢の増悪を認めず無治療経過観察を継続していた。初診時予後不良因子を有していなかった5症例のうち、3症例で急性転化を認め、化学療法を施行されていた。治療開始までの期間は、それぞれ5ヶ月、2年、3年であった。2例で経過中に予後不良因子(LDH>基準値が1例、アルブミン<基準値が1例)を認めたが、無治療経過観察中であった。5例全例で生存中であった(生存期間中央値：2年3ヶ月)。

次に、本試験で採用している基準(試験基準)で検討した。施設基準値で予後不良因子ありと判定された症例のうち4例は予後不良因子なしの判定となった。理由は全て、LDH値 \leq 300であった。試験規準で予後不良因子

有り」と判定された4例中の3例が死亡、BUN高値で判定された1例は無治療で生存中であった（生存期間中央値：1年5ヶ月）。一方、予後不良因子なしと判定された4例中3例で化学療法を行われ（全例死亡）、1例は無治療で生存中であった（生存期間中央値：1年4ヶ月）。また、施設基準で急性転化例と診断された8例のうち7例は試験基準でも急性転化の診断となった。

D. 考察

少数例の予備的検討では、試験基準では、適格症例の増加が期待された。一方で、施設基準で予後不良なしと判定された症例と比較して、試験基準で予後不良因子なしと判定された症例の方が、予後が悪い可能性も示唆され、注意が必要と思われる。

E. 結論

前向き臨床試験において、試験治療の有用性ととも、共用規準の妥当性についても慎重に評価していく必要があることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 英文雑誌

1. Taguchi M, Imaizumi Y, Sasaki D, Higuchi T, Tsuruda K, Hasegawa H, Taguchi J, Sawayama Y, Imanishi D, Hata T, Yanagihara K, Yoshie O, Miyazaki Y. Molecular analysis of loss of CCR4 expression during mogamulizumab monotherapy in an adult T cell leukemia/lymphoma patient. *Ann Hematol*, 2014.
2. Taniguchi H, Hasegawa H, Sasaki D, Ando K, Sawayama Y, Imanishi D, Taguchi J, Imaizumi Y, Hata T, Tsukasaki K, Uno N, Morinaga Y, Yanagihara K, Miyazaki Y. Heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 exerts potent activity against adult

T-cell leukemia-lymphoma cells. *Cancer Sci* 105(12):1601-8, 2014.

3. Makiyama J, Imaizumi Y, Tsushima H, Taniguchi H, Moriwaki Y, Sawayama Y, Imanishi D, Taguchi J, Hata T, Tsukasaki K, Miyazaki Y. Treatment outcome of elderly patients with aggressive adult T cell leukemia-lymphoma: Nagasaki University Hospital experience. *Int J Hematol*, 100(5):464-72, 2014.
 4. Yoshida N, Karube K, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Imaizumi Y, Taira N, Uike N, Umino A, Arita K, Suguro M, Tsuzuki S, Kinoshita T, Ohshima K, Seto M. Molecular characterization of chronic-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Res*, 74:6129-38, 2014.
 5. Fukushima T, Nomura S, Shimoyama M, Shibata T, Imaizumi Y, Moriuchi Y, Tomoyose T, Uozumi K, Kobayashi Y, Fukushima N, Utsunomiya A, Tara M, Nosaka K, Hidaka M, Uike N, Yoshida S, Tamura K, Ishitsuka K, Kurosawa M, Nakata M, Fukuda H, Hotta T, Tobinai K, Tsukasaki K. Japan Clinical Oncology Group (JCOG) prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukemia-lymphoma (JCOG0902A). *Br J Haematol*, 166(5):739-48, 2014.
- ##### 2. 学会発表
1. 新野大介、谷口広明、今泉芳孝、佐々木大介、長谷川寛雄、三好寛明、郭英、加藤丈晴、柳原克紀、宮崎泰司、大島孝一：Clinical significance of overexpression of MALT1 in adult T-cell leukemia/lymphoma,第76回日本血液学会,大阪,

- 2014年10月31日～11月2日。(口演)
2. 野坂生郷、岩永正子、石澤賢一、石田陽治、内丸薫、石塚賢治、天野正宏、石田高司、今泉芳孝、鵜池直邦、宇都宮與、大島孝一、河井一浩、田中淳司、戸倉新樹、飛内賢正、渡邊俊樹、塚崎邦弘: A nationwide survey of patients with a dult T cell leukemia/lymphoma (ATL) in Japan: 2010-2011,第76回日本血液学会,大阪,2014年10月31日～11月2日。(口演)
 3. 加藤丈晴、今泉芳孝、谷口広明、牧山純也、上条玲奈、北之園英明、小林裕児、田口正剛、松尾真稔、安東恒史、澤山靖、新野大介、田口潤、今西大介、波多智子、大島孝一、宮崎泰司: Maintenance the rapy in elderly patients with adult T-cell leukemia-lymphoma, 第76回日本血液学会,大阪,2014年10月31日～11月2日。(ポスター)
 4. 谷口広明、今泉芳孝、高崎由美、北之園英明、中島潤、加藤丈晴、牧山純也、安東恒史、澤山靖、今西大介、田口潤、長谷川寛雄、波多智子、塚崎邦弘、宮崎泰司: Analysis of acute crisis of smolde ring and chronic adult T-cell leukemia-lymphoma, 第76回日本血液学会,大阪,2014年10月31日～11月2日。(ポスター)
 5. 谷口広明、今泉芳孝、北之園英明、加藤丈晴、牧山純也、安東恒史、澤山靖、今西大介、田口潤、波多智子、長谷川寛雄、新野大介、大島孝一、宮崎泰司:末梢血と肝臓の病変で発症しindolentな経過をたどった成人T細胞白血病リンパ腫, 第54回日本リンパ網内系学会総会,山形, 2014年6月19日～6月21日。(ポスター)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(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

厚生労働省科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目：付随研究）

臨床試験、発症ハイリスクコホート、ゲノム解析を統合したアプローチによる
ATL標準治療法の開発に関する研究

担当責任者 内丸 薫 東京大学医科学研究所附属病院 准教授

研究要旨：HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程を解析する HAS-2G 法を用いて HTLV-1 キャリア、indolent ATL 患者 60 例の CD7/CADM1 の発現の解析を行った。HAS-2G 法による解析は HTLV-1 感染者末梢血の病態を非常によく反映していると考えられ、一部のハイリスクキャリアと indolent ATL 患者末梢血は区別できず、これらを一緒にした新しい病態概念が必要と考えられた。化学療法に反応した症例は HAS-2G のパターンが改善し、JCOG1111 による臨床研究において HAS-2G パターンに変化が見られるかどうかの検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

我々の開発した HTLV-1 感染者末梢血 CD4 陽性細胞における CD7/CADM1 の発現を検討する multi-color FACS system(HAS-2G 法)によって、HTLV-1 キャリア、ATL 患者末梢血において CD7⁺/CADM1^(P)、CD7^{dim}/CADM1^(D)、CD7/CADM1^(N)の3つの集団が検出され、これらはこの順に ATL へ向けての腫瘍化過程が進行した細胞集団であることを我々は報告してきた。本研究では多数例の HTLV-1 キャリアと indolent ATL を HAS-2G を用いて解析し、HAS-2G の解析パターンと病態との関連をより詳細に明らかにするとともに、本研究における AZT+IFN- α によるくすぶり型、慢性型 ATL 症例の治療 (JCOG1111) の過程のモニターへの応用の可能性について検討した。

B. 研究方法

東大医科研血液腫瘍内科を受診した HTLV-1 キャリア 41 例、くすぶり型 ATL 9 例、慢性型 ATL 10 例の合計 60 例を解析対象とした。末梢血単核球を分離後、既報のとおり HAS-2G 法により、CD14 陽性単球を gate out した後、CD3/4 陽性 T 細胞に

gate をかけ、CD7/CADM1 の発現を解析した。これらの集団の clonality について inverse PCR で解析を行った。対象症例の末梢血異常リンパ球数などの臨床情報、プロウイルス量などのデータと HAS-2G パターンとの関連について解析を行った。また、急性型症例における治療反応性と HAS-2G のパターンの関連についてデータの取られている 13 例について予備的に後方視的に解析した。

(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 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

1) 末梢血中プロウイルス量 (PVL) >4% は ATL 発症のリスクファクターであることが報告されているが、HAS-2G による解析により PVL<4% の症例はほぼ全例 D+N<10%、PVL>4% の症例は同様に D+N>10%と明瞭に分離された (図 1)。D+N の%によりキャリア、indolent ATL は D+N が 0~10%、10~25%、25~50%、50%<の4つの集団に分けられた(図 2)。

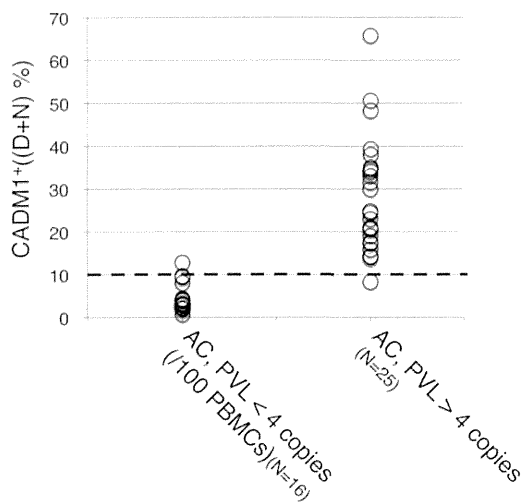


図1 D+N(%)とPVLの関係

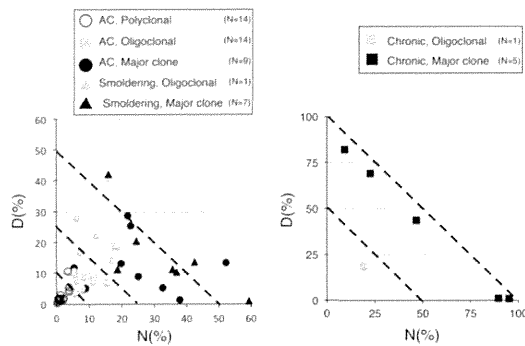


図2 D+N(%)による4集団への分画

これらの集団は D+N<10% では全例 HTLV-1 感染細胞は polyclonal であり、末梢血中異常リンパ球は1%前後であった(図3)。10%~25% ではほとんどの症例が

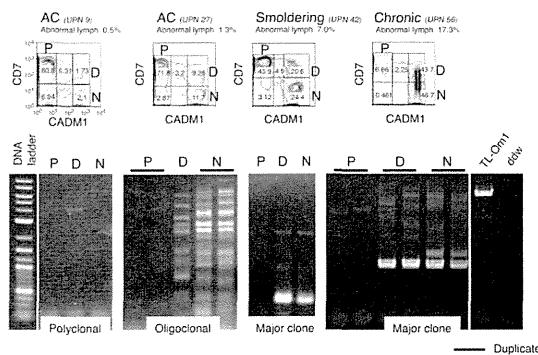


図3 各分画の clonality 解析

oligoclonal、ないし major clone の増殖を認める症例であったが、異常リンパ球は2~3%程度で全例診断はキャリアであった。25%~50% では全例で oligoclonal band ないし major clone を認め、くすぶり型 ATL とキャリアが混在していた。異常リンパ球は5%前後で継時的に5%前後で推移し、これらのくすぶり型 ATL とキャリアとは区別ができなかった。慢性型症例は全例 D+N>50%であった。一部のくすぶり型症例、またキャリアの中にもここに分布する症例があったが、全例 major clone を認める症例であった(図2、3、4)。

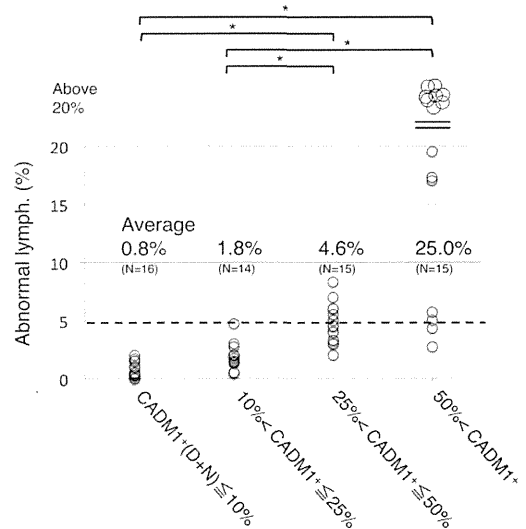


図4 4 集団の末梢血異常リンパ球数

2) aggressive ATL 症例で多剤併用化学療法を受けた症例の治療反応と HAS のパターンに関連を予備的に解析した結果、化学療法に感受性の症例では D+N の%が減少して HAS のパターンが改善するのに対し、化学療法不応例では、HAS のパターンが変化しないことが明らかになった(図5)。臨床的に治療反応がみられている症例でも HAS-2G パターンの改善のない症例では、

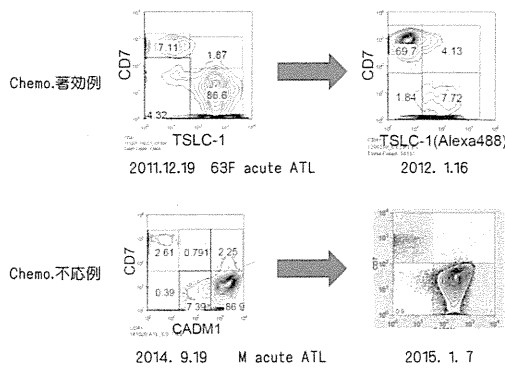


図5 化学療法著効例、不応例のHASパターン

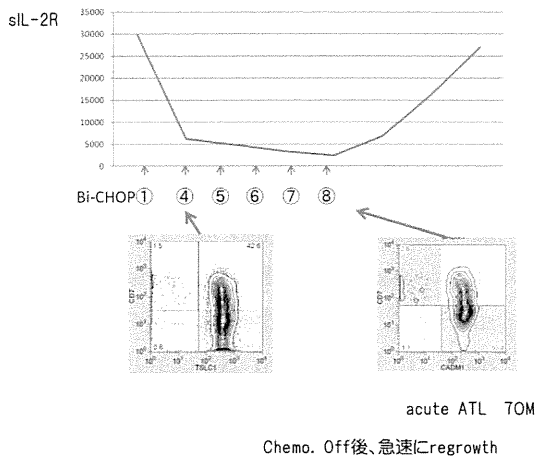


図6 HASパターン不変例

治療 off 後急速に再発した

治療終了後早期に再発・再燃がみられ(図6)、HAS-2G は病態の改善を評価する上で優れた方法であることが示唆された。

D. 考察

本研究の結果、HAS-2Gのパターンは末梢血中の異常リンパ球数や PVL、HTLV-1 感染細胞の clonality などとよく相関していた。PVL 測定と比較して簡便かつ短時間に結果が得られ、また視覚的にも優れているだけでなく、腫瘍化過程の各段階の細胞を分画して解析することも可能であることから、HTLV-1 感染者の腫瘍化過程の評価を行う上で優れた方法と考えられた。くすぶり型とキャリアの一部の症例はこれらの解析によっては区別できず、これらを一つの集団と見なす新たな概念、病型分類が必要であろうと考えられる。HAS-2G による解析は各症例の

病態を非常によく反映していると考えられ、HAS-2G により解析することで、HTLV-1 感染細胞の clonality が推定でき、腫瘍化の過程のどの段階にいるのかを推定することが可能と考えられる。本法は HTLV-1 キャリアの ATL 発症リスクの評価にも有用と考えられ、現在 HAS-2G の種々のパターンについて HTLV-1 キャリアからの ATL 発症についてコホートを追跡して評価を行っている。

これらの解析結果から、aggressive ATL において治療が効果をあげて clonal に増殖している腫瘍細胞が減少すると HAS-2G による D、N の集団が減少し、HAS-2G パターンが改善することが期待される。そこでこれまで当科で治療して来た aggressive ATL13 例について治療経過に伴う HAS-2G の変化について予備的に検討を行った。予想通り化学療法によく反応した症例では D+N の割合が減少し、化学療法抵抗性の症例では D+N の%にほとんど変化がなかった。さらに臨床的パラメーターに改善がみられても HAS-2G に改善が見られない症例では mass reduction が得られているだけで、病態の改善にはつながっていないと推定され、化学療法終了後に急速に再発・再燃していた。現在これらの症例の HAS-2G パターンと予後との関連について解析を行っている。

本研究班における AZT+IFN- α による indolent ATL の臨床試験(JCOG1111) において、治療有効症例において果たして HAS-2G パターンに変化が見られるのかどうかは大変興味深いところであり、もし HAS-2G パターンに改善が見られるようであれば HTLV-1 感染細胞の clonality も改善して、キャリアの病態に戻していることが期待される。一方、もし HAS-2G パターンに変化が見られなければ AZT+IFN- α による治療は単なる mass reduction であり真の意味での病態の改善、予後の改善にはつながらないと推測される。現在 JCOG1111 試験における附随研究として試験参加者の HAS-2G

の解析を行うためのプロトコルを検討中である。

E. 結論

HTLV-1 感染細胞の CD7/CADM1 の発現レベルを Flow cytometry で検討する HAS-2G 法により、HTLV-1 キャリア、ATL 患者の病態解析が可能であり、ATL 患者に対する化学療法などの治療に対する反応の評価も可能と考えられた。本研究課題の indolent ATL に対する AZT+IFN- α による臨床試験(JCOG 1111)により、indolent ATL 患者末梢血の HAS-2G パターンにどのような変化が起こるかの検討は本治療の有用性の検討に重要と考えられ、現在附随研究プロトコルを検討中である。

F. 健康危険情報 該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表 英文雑誌

1. Kawamata T, Ohno N, Sato K, Kobayashi M, Jo N, Yuji K, Tanosaki R, Yamano Y, Tojo A, Uchimaru K. A case of post-transplant adult T-cell leukemia/lymphoma presenting myelopathy similar to but distinct from human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy. Springerplus 2014.
2. Konuma T, Kato S, Yuji K, Ohno N, Uchimaru K, Takahashi S, Tojo A. Clearance of blasts from peripheral blood during induction chemotherapy using exponential decay model predicts complete remission and long-term survival in adult acute myeloid leukemia. Int J Lab Hematol, 2014.
3. Ishigaki T, Zaike Y, Nojima M, Kobayashi S, Ohno N, Uchimaru K, Tojo A, Nakauchi H, Watanabe N. Quantification of adult T-cell leukemia/lymphoma cells using simple four-color flow cytometry. Clin Chem Lab Med, 53(1):85-93, 2015.
4. Takahashi R, Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Yamochi T, Fujikawa D, Nakashima M, Tanaka Y, Uchimaru K, Utsunomiya A, Watanabe T. Epigenetic deregulation of Ellis Van Creveld confers robust Hedgehog signaling in adult T-cell leukemia. Cancer Sci, 105(9):1160-9, 2014.
5. Kobayashi S, Nakano K, Watanabe E, Ishigaki T, Ohno N, Yuji K, Oyaisu N, Asanuma S, Yamagishi M, Yamochi T, Watanabe N, Tojo A, Watanabe T, Uchimaru K. CADM1 expression and stepwise downregulation of CD7 are closely associated with clonal expansion of HTLV-I-infected cells in adult t-cell leukemia/lymphoma. Clin Cancer Res, 20(11):2851-61, 2014.
6. Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Tojo A, and Takahashi S. Impact of sex incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation for adult patients with hematological malignancies. Bone Marrow Transplant, 49(5):634-9, 2014.
7. Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Tojo A, Takahashi S. Effect of ABO Blood Group Incompatibility on the Outcome

of Single-Unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20(4):577-81, 2014.

8. Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Asano S, Tojo A, Takahashi S. Single-Unit Cord Blood Transplantation after Granulocyte Colony-Stimulating Factor-Combined Myeloablative Conditioning for Myeloid Malignancies Not in Remission. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20(3):396-401, 2014.

和文雑誌

1. 内丸 薫:わが国におけるHTLV-1キャリアとATL患者に対する相談機能と知識の普及. *血液内科* 68(1):58-64, 2014.
2. 内丸 薫:成人T細胞白血病(ATL)検査と技術.42:1370-1375, 2014.
3. 内丸 薫:成人T細胞白血病 *medicina* 52(4) in press

2.学会発表

1. 石垣知寛、小林誠一郎、大野伸広、大田泰徳、渡辺信和、東條有伸、中内啓光、内丸 薫: 間質依存性増殖を示す新規急性型ATL細胞株の樹立と in vivo 増殖モデルの解析,第76回日本血液学会学術集会,大阪,2014. (口演)
2. Yamagishi M, Takahashi R, Sakai N, Fujiwara D, Nakagawa S, Yammochi T, Yamachi T, Nakano K, Uchimaru K, Utsunomiya A and Watanabe T. Tumor-specific gene expression leads to p38 and Hedgehog activation in adult T-cell leukemia,第76回日

本血液学会学術集会,大阪,2014. (口演)

3. Noasaka K, Iwanaga M, Ishizawa K, Ishida Y, Uchimaru K, Ishitsuka K, Amano M, Ishida T, Imaizumi Y, Uike N, Utsunomiya A, Oshima K, Kawai K, Tanaka J, Tokura Y, Tobinai K, Watanabe T, Tsukasaki K. A nationwide study of patients with adult T-cell leukemia/lymphoma(ATL) in Japan:2010-2011,第76回日本血液学会学術集会,大阪,2014.(口演)
4. JO N, Ohno N, Takeda R, Nakamura S, Hirano M, Takei S, Kawamata T, Yokoyama K, Fukuyama T, Yuji K, Uchimaru K and Tojo A. ESHAP regimen as salvage therapy for patients with relapsed or refractory adult T cell leukemia,第76回日本血液学会学術集会,大阪,2014. (ポスター)
5. Kawamata T, Ohno N, Sato K, Kobayashi M, Jo N, Yuji K, Tanosaki R, Yamano Y, Uchimaru K and Tojo A. Differential diagnosis of by flow cytometric analysis of post allo-SCT myelopathy; a case report/,第76回日本血液学会学術集会,大阪,2014. (ポスター)
6. Konuma T, Kato S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Yokoyama K, Jo N, Uchimaru K, Takahashi S and Tojo A. Impact of clearance of blasts from peripheral blood during induction chemotherapy of AML,第76回日本血液学会学術集会,大阪,2014. (ポスター)
7. Ohshima Y, Tanimoto T, Yuji K, Uchimaru K, Takahashi S and Tojo A. Scouting risk factors for CMV and HBV reactivation in 4,631 non-tra

- nsplant malignant lymphoma cases,
第76回日本血液学会学術集会,大阪,2014. (ポスター)
8. 平野光人、大野伸広、小林誠一郎、石垣知寛、田野崎隆二、鴨居功樹、内丸 薫、東條有伸: 急性型ATLとHTLV-1ぶどう膜炎の同時発症の1例,第1回日本HTLV-1学会学術集会 ,東京 ,2014. (口演)
 9. 石垣知寛、小林誠一郎、大野伸広、中野伸亮、宇都宮與、山崎 聡、渡辺信和、東條有伸、中内啓光、内丸 薫: 急性型ATLにおける細胞表面抗原のクラスタリング解析とATL幹細胞マーカーの探索, 第1回日本HTLV-1学会学術集会 ,東京 ,2014. (口演)
 10. Ishigaki T, Kobayashi S, Nakano N, Utsunomiya A, Uchimaru K and Tojo A. Hierarchical clustering analysis of surface antigens on ATL cells and search for AT⁺ initiating cell marker,第73回日本癌学会学術総会,横浜, 2014. (ポスター)
 11. Kobayashi M, Ohno N, Fukuyama T, Kawamata T, Uchimaru K, Tojo A. The BRAF-V600E mutation in circulating cell-free DNA is a promising biomarker of high-risk adult Langerhans cell histiocytosis, The 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, 2014. (ポスター)
 12. Ishigaki T, Uchimaru K et al: Comprehensive Analysis of Surface Antigens on Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATL) Cells and Search for ATL-Initiating Cell Markers, The 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, 2014. (ポスター)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
1. 特許取得
 2. 実用新案登録
 3. その他
- いずれも本年度は該当なし

臨床試験、発症ハイリスクコホート、ゲノム解析を統合したアプローチによる
ATL標準治療法の開発に関する研究

担当責任者

渡邊 俊樹 東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授
村上 善則 東京大学医科学研究所・教授
鈴木 穰 東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授

研究要旨：臨床治験とバンキングを利用して治療反応性と予後に関する指標マーカーを同定し、ハイリスクキャリアから indolent ATL 進展のリスク予測因子を解明し、新規治療標的候補の同定に繋げることを目指し、以下の基盤整備と検討を行った。1) HTLV-1 キャリア及び関連疾患患者のコホート研究とバンキングシステムである JSPFAD のウェブサイト整備、2) HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程とゲノム変異の相関解析、3) ATL 細胞のエピジェネティック異常の網羅的解析と新規治療薬候補物質の大規模スクリーニング。1)については、基本構造を決定し、登録画面の作成と稼働試験を済ませた。2)については HAS-2G 法により分画した細胞に関してパイロット的なエクソーム解析を行い、次年度以降の解析計画を決定した。また、HAS-2G 法に用いる抗 CADM1 モノクローナル抗体を新規に複数作成した。3)については ATL 由来細胞株におけるメチル化ヒストンのパターンを ChIP-on-chip によって解析を行った。miR-31 発現回復能を指標に 21 万種類の低分子化合物をスクリーニングし、候補物質を得た。

A. 研究目的

インターフェロン α とジドブジン併用療法 (IFN+AZT 療法) の第 III 相試験の遂行と並行して、バイオバンクジャパン (BBJ) に保存した試験参加患者検体に加えて、HTLV-1 キャリア・患者コホート (JSPFAD) 検体を統合してゲノム解析することにより、治療反応性と予後に関する指標マーカーを同定し、ハイリスクキャリアから indolent ATL 進展のリスク予測因子を解明し、新規治療標的候補の同定に繋げる。本分担研究では以下の課題に取り組む。

1. ウェブサイトの整備

研究分担者は、2002 年以来、全国共同研究組織として Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development (JSPFAD) を運用し、全国 50 施設の参加を得て、これまでにキャリア約 3,000 名、ATL 患者 500 例以上、HAM 患者約 50 名、およびぶどう膜炎患者 110 名の協力を得て、総検体数約 10,000 検体の DNA と血漿サン

ルのバンクを形成している。本研究計画では、JSPFAD の既存検体の利用と、前方視的に、BioBank Japan(BBJ)との統合を目標として、当面は BBJ とのダブルバンキングの体制整備を進める。このために、従来の紙媒体に基づく情報集約方式を、ウェブサイトを利用してデジタル化を進め、将来の統合に向けた基盤整備を行うことにした。

2. HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程とゲノム変異の相関解析

我々はこれまで、HTLV-1 キャリアや ATL 患者 CD4⁺ T 細胞を、フローサイトメトリーによって CADM1 と CD7 発現量により分画することにより (HAS-FLOW 法)、一個体中の細胞を CADM1(Low)/CD7(High)(非感染細胞集団)、CADM1(High)/CD7(Dim)(感染細胞集団)、CADM1(High)/CD7(Low)(腫瘍細胞集団)に分離できることを発見し、おのの細胞集団の遺伝子発現プロファイル解析から、腫瘍化に伴う遺伝子発現異常を明らかにした(5)。本研究では、上記の分画細胞

集団から得たゲノム DNA について、次世代シーケンサー技術を用いたゲノム変異解析を行い、遺伝子発現プロファイルをはじめとする、ATL 発症に伴う細胞形質の変化が、どのようなゲノム変異の蓄積に起因するものなのか、ATL 細胞の遺伝子異常の実態を明らかにすることを目的とする。

3 ATL 細胞のエピジェネティック異常の網羅的解析と新規治療薬候補物質の大規模スクリーニング

我々のこれまでの研究成果から、ATL 細胞の背景には EZH2 依存的なエピジェネティック異常と、それに伴う遺伝子発現異常と miRNA 発現欠損が明らかになっている (Cancer Cell, 2012)。本研究では ATL 細胞及び HTLV-1 感染不死化細胞における EZH2 依存的なエピジェネティック異常の全貌を明らかにする。さらに miRNA の発現異常によって形成される腫瘍細胞に対して効果的に細胞死を誘導する新規化合物を大規模スクリーニングによって得る。

B. 研究方法

1. ウェブサイトの整備

この目的のために、専門の業者へ業務を委託して作業を進めることとした。検討の結果、アクセライト社へ業務を委託することとし、研究参加者の登録、研究協力施設医療担当者からの背景情報および臨床情報の入力、業者に測定を外注している可溶性 IL-2Ra 測定値の取り込み、研究室レベルで測定している provirus の定量 PCR による解析(provirus load(PVL)の測定)などの結果を入力し解析する適切なデザインを決定し、年度内には基本構造の構築と試験運用を目指した。

2. HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程とゲノム変異の相関解析

くすぶり型および慢性型の ATL 患者各 1 名より血液検体 (20mL) を採取し、PBMC

を単離した。その後、FACS ソーティングによってまず CD4⁺T 細胞を分離し、次に CADM1 と CD7 発現量による分画を行い、非感染細胞、感染細胞、腫瘍細胞を分取した (以上、内丸分担研究者との共同研究による)。次に各細胞集団からゲノム DNA を抽出し (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen)、200ng のゲノム DNA を用いて Sure Select Exome Capture Kit (Agilent Technologies) でエクソン領域の濃縮を行った後、次世代シーケンサー HiSeq2500 (Illumina) によってシーケンシングを行った (以上、鈴木分担研究者との共同研究による)。新規抗 CADM1 抗体の作成は、*Cadm1* 遺伝子欠損マウスを免疫することにより行った。

3 ATL 細胞のエピジェネティック異常の網羅的解析と新規治療薬候補物質の大規模スクリーニング

ATL 患者由来腫瘍細胞、健常者由来 CD4 陽性 T 細胞及び ATL 由来細胞株におけるメチル化ヒストンのパターンを ChIP-on-chip によって解析を行った。さらにこれまでに明らかにした ATL 細胞に特徴的な遺伝子発現パターンと統合して、エピジェネティック異常の実態とその影響を検討した。また CADM1/CD7 発現パターンを用いて感染不死化細胞を分取し、不死化、腫瘍化の過程とエピジェネティック異常の関係を検討した。

miR-31 の発現を効果的に回復させる化合物を得るため、3'UTR に miR-31 の標的配列を搭載した luciferase 遺伝子を発現する細胞株を樹立し、21 万種類の低分子化合物を処理し、luciferase の発現を抑制する化合物を取得した。

(倫理面への配慮)

ATL 患者及び HTLV-1 キャリアの末梢血単核球の使用は、東京大学医科学研究所のゲノム倫理審査委員会の承認を得ている (部局

承認番号：24-34-1004)。健常者末梢血単核球は、提供者の同意を得て使用した。

C. 研究結果

1. ウェブサイトの整備

年度内に6回の打ち合わせを行い、本研究目的に合わせたウェブサイトの基本構造を明確にした。これに基づき、ウェブの構造を決定し、研究協力施設からの入力画面、背景情報の入力画面など基礎的な構造を構築した。これに基づき、年度内に動作確認作業を行い、次年度には、全体の構造を確定して運用を開始することを目指している。

2. HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程とゲノム変異の相関解析

この度初めて HAS-FLOW 法によって分画した ATL 患者 T 細胞を用いて、次世代シーケンサーによるエクソーム解析を行った。分画によっては 1×10^5 細胞オーダーの細胞しか得られないため、解析に持ち込んだゲノム DNA 量は 200ng と、exome enrichment kit が推奨するゲノム DNA 量の最小量であったが、シークエンスデータはその後の解析に耐える精度のものが得られ、患者に負担を掛けいな程度の採血量で、ゲノム DNA 変異解析が可能であることが分かった。現在は非感染細胞、感染細胞、腫瘍細胞集団で観察されるゲノム変異の変遷を、個々の患者ごとに解析中である。個別の変異とその意義については、今後さらなる解析が必要であるが、目下初期的な解析においては、くすぶり型患者に比べ、慢性型患者の感染細胞集団と腫瘍細胞集団で見られるゲノム DNA 変異の種類が高いこと。慢性型患者で、感染細胞集団から腫瘍細胞集団へ引き継がれている変異、あるいは腫瘍細胞で新たに生じる変異の頻度は、この患者の感染細胞と腫瘍細胞集団で見られる細胞クローンのパターンと大きさ（全細胞に占める割合）に相関しており、HAS-FLOW 法で分画した細胞集団のゲノム DNA 変異を解することにより、クローン

増殖をしている細胞集団の変異を抽出できる可能性が示唆された。

高頻度に出現する変異を探索したところ、各集団に特徴的な変異は検出されなかった。ある慢性型患者においては、非感染細胞（P 細胞群）では検出されないものの感染細胞および腫瘍細胞（D 細胞群と N 細胞群）に共通で検出された変異が 35 個認められた。この中には、重要な機能変異をもたらす可能性のある TCF7 や FZD3 遺伝子が含まれていた。

また HAS 法で用いられる細胞表面マーカー CADM1 は複雑な N-型、O-型糖鎖修飾を受ける糖タンパク質であり、抗体に対する親和性が種々の腫瘍細胞で異なることから、ATL 細胞クローンのより特異的な検出を目指して、*Cadm1* 遺伝子欠損マウスを免疫することにより、新規 CADM1 モノクローナル抗体の作成を試み、10 種以上の新規抗体を得た。

3 ATL 細胞のエピジェネティック異常の網羅的解析と新規治療薬候補物質の大規模スクリーニング

3-1. ATL 細胞及び HTLV-1 感染細胞におけるエピジェネティック異常の網羅的解析

ATL 細胞及び正常 T 細胞を用いて H3K27me3 及び H3K4me3 の網羅的解析を行った結果、ATL 細胞には正常 T 細胞では見られない広範な異常メチル化の蓄積があり、遺伝子発現に対して直接的に影響していることが明らかになった。一方 H3K4me3 も限定された領域で異常なパターンを示しており、遺伝子の正及び負の制御の両方がエピジェネティックに攪乱されていることが明らかになった。

メチル化によって抑制されている遺伝子群の機能を予測した結果、機能未知な転写因子群が多くヒットした。また ATL 細胞のマーカーとなる CADM1 の発現上昇や CD7 の発現減少、細胞周期の制御に関わる p21 の発現抑制と H3K27me3 の関連が明らかになっ

た。さらに我々はこれまでに ATL 細胞における miRNA の発現欠損を報告したが、そのプロモーター上に非常に強い H3K27me3 の蓄積があることがわかった。

CADM1/CD7 発現パターンを用いて感染不活化細胞を分取し、各集団における EZH2 及び miR-31 の発現を検討した結果、感染不活化細胞の段階で EZH2 が過剰に発現し、H3K27me3 の異常な蓄積による遺伝子発現異常が誘導されていることがわかった。さらに分取した細胞を直接 ChIP assay で検討し、感染細胞における H3K27me3 の獲得と、腫瘍化過程における異常蓄積が明らかになった。

3-2.ATL 細胞の miRNA 発現に影響する低分子化合物の大規模スクリーニングと評価

miR-31 の発現レベルを高感度に検出するため、luciferase 遺伝子の 3'UTR に miR-31 の標的配列をタンデムに搭載した人工遺伝子を作成した。これを ATL 細胞と同様に miR-31 の発現が減少し、且つ miR-31 によって生存能に影響を受けない乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞のゲノムに組み込んだクローンを作成した。この細胞に miR-31 を導入すると luciferase の活性化が著しく低下することを確認した。また大規模スクリーニング用の 384 ウェルプレートの底面に接着するため活性の検出に有効であることを確認した。

このクローンと、カウンターアッセイとして miR-31 の標的配列を搭載しない 231 細胞クローンに対して、21 万種類の低分子化合物ライブラリーを処理し、プレートリーダーで luciferase の発光を検出した。miR-31 標的配列に依存しない偽陽性を排除して得られた一次候補化合物について、さらに濃度依存性を検討して、候補化合物とした。現在、これらの miR-31 の発現誘導能と ATL 細胞に対する影響を検討し、その分子メカニズムについても検討を行っている。またこれらの

候補化合物の機能を次世代シーケンサーによる RNA-seq 及び small RNA-seq の検討を行っている。

D. 考察

1. ウェブサイトの整備

JSPFAD の研究協力者の新規情報の入力を容易にし、同時に、過去 1 2 年分の情報を新たなウェブサイトへ取り込んで、統一的に解析可能にするための、基本設計を行い、試験運用まで可能にしたことは、今後の情報処理と将来の BBJ との統合に向けた大きな前進と考える。次年度は、サイト全体の詳細を確定し、試験運用を済ませた上で、ウェブサイトベースの運用を開始する。さらに、過去の約 1 万検体の情報の移行を行い、新規登録検体と合わせて統一的な解析が可能な体制を確立することが必須である。

2. HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程とゲノム変異の相関解析

今年度は初めて HAS-FLOW 法によって ATL 患者一個人から分離した非感染細胞、感染細胞、腫瘍細胞集団のゲノム DNA 変異解析を試み、十分解析可能なデータが得られることが分かった。一方 ATL 細胞が様々なサイズのクローンの集まりであるという特性を考慮すると、頻度の低い変異は小さいクローンの変異を反映しているのか、それともシーケンス・エラーなのかを見分ける必要がある。そこで今後は、このような ATL 細胞の特性を重視しつつ、様々な側面からのデータ解析を試すことにより、ATL 細胞集団に含まれる大小さまざまな腫瘍細胞クローンそれぞれの変異を正しく把握できるような解析方法を確立していく。また、検体数をさらに 10 名分増やすことを目標に、エクソン領域だけでなく、全ゲノム領域のシーケンスを行い、ATL 細胞でのゲノム全体の変異の傾向を解析していく予定である。

3. ATL 細胞のエピジェネティック異常の網羅的解析と新規治療薬候補物質の大規模スクリーニング

本研究で初めて ATL 細胞に特徴的なエピジェネティックの全貌が明らかになった。ATL細胞はH3K27me3の蓄積が顕著であり、EZH2の過剰発現がその原因の一つであると考えられた。制御される遺伝子群にはATL細胞の機能やマーカーとして重要な遺伝子群が同定された。さらに機能未知な転写因子群やmiRNA群も含まれており、EZH2を標的とした治療戦略の可能性が示された。一方、転写に対して正に働くH3K4me3は全体的な変化は見られなかったが、局所的な変化が多数見られた。制御下にある遺伝子には、ATL細胞におけるHedgehog経路の活性化原因遺伝子であるEVC1/2が含まれていた(Cancer Science, 2014)。以上より、複雑なエピジェネティック異常がATL細胞の様々な特徴を規定していることがわかった。

大規模スクリーニングによりmiRNAの発現に影響する化合物を複数同定した。これらの化合物がATL細胞に対してどのような効果を持つかは来年度以降の課題である。

E. 結論

1. ウェブサイトの整備

JSPFADの運用方式の更新とBBJとの統合を可能にする基盤の整備が開始された。初年度として、半年の活動期間の間に効率的に作業を進めたと考えられる。次年度中に本格的な運用を開始する。

2. HTLV-1感染細胞の腫瘍化過程とゲノム変異の相関解析

今年度は2名のATL患者検体を用いて、初めて次世代シーケンサー技術によるゲノム変異解析を試みた。得られたデータの質、また、まだ解析途中ではあるがこれまでの解析結果などを鑑み、来年度以降さらに検体数を増やしデータを積み重ねていくことで、こ

れまで得られていないATL細胞のゲノム異常の実態に関する重要な情報が得られるものと期待できる。

3. ATL 細胞のエピジェネティック異常の網羅的解析と新規治療薬候補物質の大規模スクリーニング

本分担研究において、初めてATL細胞に特徴的なエピジェネティックの全貌を明らかにすることができた。さらに、miRNAの発現に影響するシード化合物を複数同定したことから、次年度以降は、これらの化合物のATL細胞に対する作用の詳細な解析と、臨床応用の可能性についての検討を行う予定である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表 英文雑誌

1. Kobayashi S, Watanabe E, Ishigaki T, Ohno N, Yuji K, Nakano K, Yamochi T, Watanabe N, Tojo A, Watanabe T, Uchimaru K. Advanced HTLV-1 carriers and early-stage indolent ATLs are indistinguishable based on CADM1 positivity in flow cytometry. Cancer Sci, in press.
2. Kuramitsu M, Okuma K, Yamagishi M, Yamochi T, Firouzi S, Momose H, Mizukami T, Takizawa K, Araki K, Sugamura K, Yamaguchi K, Watanabe T, Hamaguchi I. Identification of TL-Om1, an ATL Cell Line, as a Reference Material for Human T-Lymphotropic Virus 1 Quantitative PCR. J Clin Microbiol, in press.
3. Takahashi R, Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Yamochi T, Fujikawa D,

- Nakashima M, Tanaka Y, Uchimaru K, Utsunomiya A, Watanabe T. Epigenetic deregulation of Ellis Van Creveld confers robust Hedgehog signaling in adult T-cell leukemia. *Cancer Sci*, 105(9):1160-9, 2014.
4. Firouzi S, López Y, Suzuki Y, Nakai K, Sugano S, Yamochi T, Watanabe T. Development and validation of a new high-throughput method to investigate the clonality of HTLV-1-infected cells based on provirus integration sites. *Genome Med*, 6(6):46, 2014.
 5. Kobayashi S, Nakano K, Watanabe E, Ishigaki T, Ohno N, Yuji K, Oyaizu N, Asanuma S, Yamagishi M, Yamochi T, Watanabe N, Tojo A, Watanabe T, Uchimaru K. CADM1 expression and stepwise downregulation of CD7 are closely associated with clonal expansion of HTLV-I-infected cells in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res*, 20(11):2851-61, 2014.
 6. Murakami S, Sakurai-Yageta M, Maruyama T, Murakami Y. Intercellular adhesion of CADM1 activates PI3K by forming a complex with MAGuK-family proteins MPP3 and Dlg. *PLoS One*, 9:e82894, 2014.
 7. Yamaguchi K, Komura M, Yamaguchi R, Imoto S, Shimizu E, Kasuya S, Shibuya T, Hatakeyama S, Takahashi N, Ikenoue T, Hata K, Tsurita G, Shinozaki M, Suzuki Y, Sugano S, Miyano S, Furukawa Y. Detection of APC mosaicism by next-generation sequencing in an FAP patient. *J Hum Genet* [in press]
 8. Suzuki A, Makinoshima H, Wakaguri H, Esumi H, Sugano S, Kohno T, Tsuchihara K, Suzuki Y. Aberrant transcriptional regulations in cancers: genome, transcriptome and epigenome analysis of lung adenocarcinoma cell lines. *Nucleic Acids Res*. 2014 Nov 6. pii: gku885. [Epub ahead of print]
 9. Suzuki A, Wakaguri H, Yamashita R, Kawano S, Tsuchihara K, Sugano S, Suzuki Y, Nakai K. DBTSS as an integrative platform for transcriptome, epigenome and genome sequence variation data. *Nucleic Acids Research* 2014; doi:10.1093/nar/gku1080
 10. Matsumoto K, Suzuki A, Wakaguri H, Sugano S, Suzuki Y. Construction of mate pair full-length cDNAs libraries and characterization of transcriptional start sites and termination sites. *Nucleic Acids Res*, 42(16):e125, 2014.
- 和文雑誌
1. 井上由紀子, 守田麻衣子, 後藤信代, 相良康子, 入田和男, 矢持忠徳, 渡邊俊樹, 岩永正子, 浜口功, 清川博之: HTLV-1 キャリアが産生するウイルス構造蛋白質に対する抗体と末梢血中のプロウイルス量に関する解析. *日本輸血細胞治療学会誌* 60(6):592-599, 2014.
 2. 学会発表
 1. Kataoka K, Nagata Y, Kitanaka A, Sato-Otsubo A, Totoki Y, Yasunaga J, Sanada M, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Suzuki H, Sato Y, Shiozawa Y, Yoshizato T, Kon A, Yoshida K, Munakata W, Nakamura H, Hama N, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kameda T, Ishiyama K, Miyawaki S, Ishii R, Nureki O,

- Nagae G, Aburatani H, Miyano S, Watanabe T, Matsuoka M, Shibata T, Shimoda K, Ogawa S: “Landscape of genetic alterations in adult T-cell leukemia/lymphoma”, 56th of ASH Annual Meeting and Exposition, Moscone Center, San Francisco, Dec. 7, 2014. (Oral/Poster)
2. Nagata Y, Enami T, Kontani K, Kataoka K, Sakata-Yanagimoto M, Kitanaka A, Sato A, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Shiozawa Y, Yoshizato T, Kon A, Yoshida K, Sanada M, Ishiyama K, Miyawaki S, Ishii R, Nureki O, Miyano S, Shimoda K, Watanabe T, Katada T, Chiba S, Ogawa S. “Novel Biological Effects and Distinct Patterns of *Rhoa* Mutations in Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma and Angioimmunoblastic T Cell Lymphoma” 56th of ASH Annual Meeting and Exposition, Moscone Center, San Francisco, Dec. 7, 2014 (Oral/Poster)
 3. Firouzi S, Yamochi T, Lopez O, Suzuki Y, Nakai K, Sugano S, Watanabe T. Monitoring clonal composition of HTLV-1-infected cells based on provirus integration sites, 第 37 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2014 年 11 月 27 日. (ポスター)
 4. 堀真琴, 藤川大, 中川翔太, 田中勇悦, 中野和民, 渡邊俊樹, 山岸誠: 「成人 T 細胞白血病における EZH2 依存的エピジェネティック異常の包括的解析」, 第 37 回日本分子生物学会年会, パンフィコ横浜, 横浜, 2014 年 11 月 25 日. (ポスター)
 5. Nakashima M, Yamochi T, Higashihara M, Watanabe T, Horie R: CD30 expressing cells in HTLV-1 carriers reveal abnormal nuclear morphology resembling flower cells, 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014 年 11 月 1 日. (口演)
 6. Yamagishi M, Takahashi R, Sakai N, Fujikawa D, Nakagawa S, Yamochi T, Yamochi T, Nakano K, Uchimaruru K, Utsunomiya A, Watanabe T: “Tumor-specific gene expression leads to p38 and Hedgehog signaling activation in adult T cell leukemia”, 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014 年 11 月 1 日. (一般口演)
 7. Nagata Y, Enami T, Sakata-Yanagimoto M, Kataoka K, Kitanaka A, Sato A, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Shiozawa Y, Yoshizato T, Kon A, Yoshida K, Sanada M, Ishiyama K, Miyawaki S, Ishii R, Nureki O, Miyano S, Shimoda K, Watanabe T, Chiba S, Ogawa S. “Distinct patterns of RHOA mutations in Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma and peripheral T-Cell lymphomas”, 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014 年 11 月 1 日. (一般口演)
 8. Kataoka K, Nagata Y, Kitanaka A, Sato-Otsubo A, Totoki Y, Yasunaga J, Sanada M, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Suzuki H, Sato Y, Shiozawa Y, Yoshizato T, Kon A, Yoshida K, Munakata W, Nakamura H, Hama N, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kameda T, Ishiyama K, Miyawaki S, Ishii R, Nureki O, Nagae G, Aburatani H, Miyano S, Watanabe T, Matsuoka M, Shibata T, Shimoda K, Ogawa S: “Landscape of genetic alterations in adult T-cell leukemia/lymphoma”, 第 76 回日本血

液学会学術集会,大阪,2014年11月1日。(一般口演)

9. Kogai H, Sakurai-Yageta M, Delloye-Bourgeois C, Tauszig-Delamasure S, Mehlen P, Murakami Y. Involvement of CADM1 in apoptosis induction of detached epithelial cells as a new type of dependence receptor. 4th France-Japan Cancer Workshop,京都市,2014年11月18~21日。(招待講演)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(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