

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立およびゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

分担研究「成人T細胞白血病における微小残存病変および免疫機能の評価に関する研究」

研究分担者

内丸 薫 東京大学医科学研究所附属病院 准教授

研究協力者

大野伸広 東京大学医科学研究所附属病院 病院講師

小林誠一郎 東京大学医科学研究所分子療法分野 助教

研究要旨： Aggressive ATL に対し、治療開始と同時にドナー検索を開始し、ドナーが得られ次第造血細胞移植を施行する治療戦略により良好な治療成績を得た。移植施行率を高めるために臍帯血、ハプロ一致ドナーなど代替ソースの利用を検討する必要があるとあり、HAS-flow 2G 法を用いた multi-color FACS による代替ソース利用の判断の有用性を評価するために、後ろ向き解析を行い、さらに aggressive ATL 前向きコホート研究において登録例の検体を解析、データ収集して前向きに検討することを計画中である。

A. 研究目的

Aggressive ATL の化学療法の成績は不良であり、最も良い成績を報告している mLSG15 でも生存期間中央値は 13 か月、3 年生存率 24% である。aggressive ATL の治療成績の改善を目指して、適応のある症例には造血細胞移植が行われているが、Hishizawa らによる本邦の aggressive ATL に対する造血細胞移植の成績の報告(Hishizawa M et al. Blood; 116: 1369-1376, 2010)によれば、HLA 一致血縁、非血縁移植での長期生存率は 40% 程度でしかない。さらに、aggressive ATL の年間発症数は年間 1200 例程度と推定されているが、そのうち移植適応となり得る 70 歳以下の症例は 400 例程度と推定される一方、ATL に対する造血細胞移植実施数は年間 140 名程度とその 3 分の 1 程度であり、移植実施数を増加させること自体が aggressive ATL の治療成績の改善につながると期待される。

本研究では、aggressive ATL に対する造血細胞移植成績の改善を目指して、そのために必

要な事項を多角的に検討し、もって aggressive ATL の治療成績改善に資することを目的とする。

B. 研究方法

1) 東大医科研附属病院血液腫瘍内科/国立がん研究センター中央病院連携により治療された aggressive ATL 症例の治療成績の後ろ向き解析

2005 年 11 月から 2014 年 9 月までに東大医科学研究所附属病院に治療目的で入院した 70 歳未満の aggressive ATL 患者 45 例を対象に、治療開始と同時に早期にドナー検索を行い、血縁ドナー不在の患者は骨髄バンクに登録し、コーディネートを開始した。原則として、下記の条件を満たす患者を移植可能と判断し、国立がん研究センター中央病院にて、血縁、非血縁同種骨髄/末梢血幹細胞移植を施行した。

1) HLA 一致 (C, DR 抗原不一致は可) の適切なドナーがいること 2) 重度の臓器障害がない

こと 3)ATL の病勢が直前の化学療法で SD 以内 (治療継続中は可) 4)活動性感染症がないこと 5)中枢神経浸潤がないこと 6)PS 0-1 7)同意が得られること

これらの症例を対象に患者背景、移植実施率、全生存期間、移植非実施理由などを診療録をもとに後ろ向きに解析した。

2)multi-color FACS(HAS-flow 2G)による ATL 治療反応の解析

HAS-flow 2G 法は我々によって開発された multi-color FACS による HTLV-1 感染細胞解析法である(Kobayashi S et al. Clin Cancer Res.;20:2851-61, 2014)。本法は末梢血単核球を分離後、multi-color FACS 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 の発現を解析する。本法により CD7+/CADM1-(P)、CD7^{dim}/CADM1+ (D)、CD7-/CADM1+(N)の3つの集団が検出され、N が aggressive ATL の腫瘍細胞集団である。上記症例のうち 13 例について本法により化学療法に伴う HAS パターンの変化を解析した。化学療法による HAS パターンの変化と治療反応性の解析、および移植予後との関連の解析を行う。

(倫理面への配慮)

本研究は介入試験ではないが、臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム倫理指針に該当する。東京大学医科学研究所倫理委員会、ヒトゲノム倫理委員会による審査を受け承認されている (承認番号: 24-34-1004) 施設個人情報保護の指針も遵守の上で研究を遂行した。

C. 研究結果

1) 東大医科研附属病院血液腫瘍内科/国立がん研究センター中央病院連携により治療された aggressive ATL 症例の治療成績の後ろ向き解析

対象患者を表 1 に示す。

表 1 対象症例一覧

患者背景	
症例数	45
性 (男/女)	25/20
年齢 (平均値)	28-68 (57.5)
60歳以上	21
60歳未満	24
病型	
急性型	39
リンパ腫型	4
慢性型	2
ECOG PS	
0-1	39
2	3
3-4	3
初回化学療法	
mLSG15	36
その他	9

症例数は 45 例、急性型が 39 例、リンパ腫型は 4 例、ハイリスク慢性型が 2 例であった。化学療法は 36 例が mLSG15、9 例が主に CHOP-like regimen を中心とするその他のプロトコールであった。化学療法の結果を図 1 に示す。31 例が造血細胞移植可能であり、13 例は

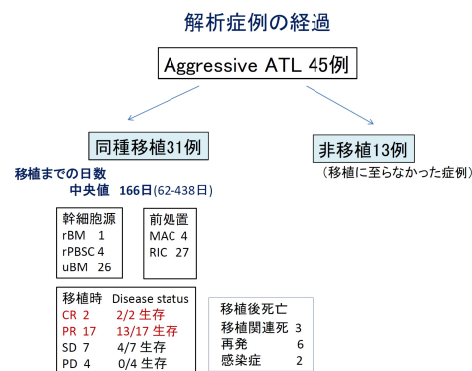


図 1 化学療法の結果

移植を施行できなかった。移植施行率 68.9%であった。移植例における治療開始から移植までの日数の中央値は 166 日であった。移植例の全生存率を図 2 に示す。3 年生存率は 60%であった。一方非移植群の 3 年生存率は 0%であった。移植前の治療反応別の生存曲線を図 3 に示す。既報の通り、化学療法感受性群の移植成績は良好で、CR、PR で移植を施行した症例の 3 年生存率は 76.5%であった。移植非施行例も含めた全例の解析では 3 年生存率は 41.5%でプラトー

であった(図4)。

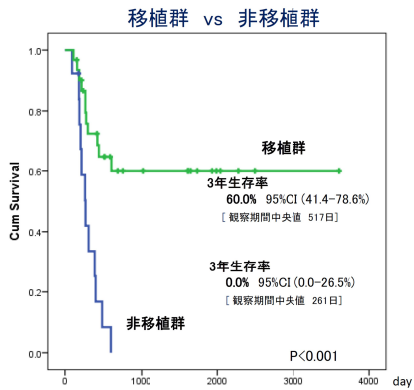


図2 移植群/非移植群の全生存率

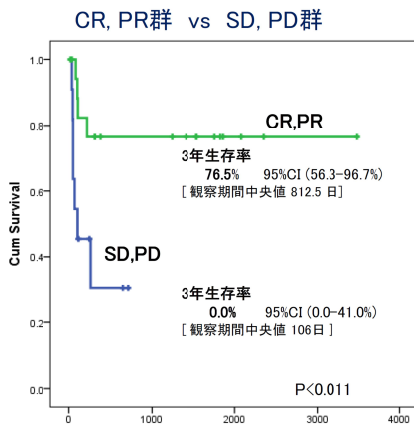


図3 移植前治療反応別生存率

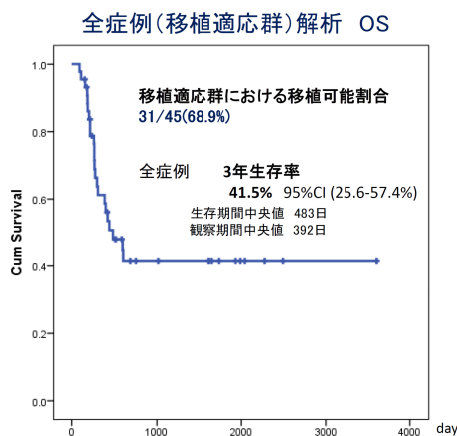


図4 解析全症例の生存曲線

移植非施行例の13例における非施行理由について解析すると感染症・臓器障害により移植適応がなかったのが3例、ドナーが得られなかったのが1例、希望しなかった症例が1

例あったが、ATLの再燃が6例、初回治療抵抗性であったのが2例で半数が移植前のコントロール不良が原因であった。

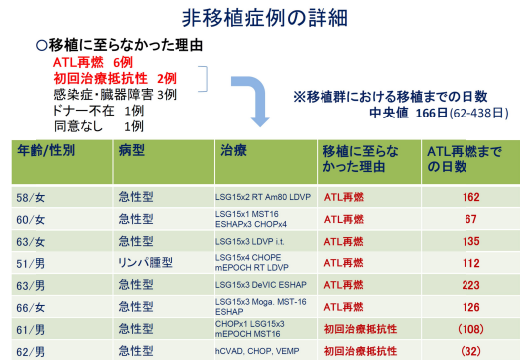


図5 ATL再燃 初回治療抵抗例

これらの症例の詳細を図5に示すが、ATL再燃までの中央値は130日であった。

2) multi-color FACS(HAS-flow 2G)によるATL治療反応の解析

HAS-flow 2G 導入後当科で化学療法を施行した症例は37例であり、そのうち2ポイント以上解析されている症例は33例である。図6に化学療法に対する反応良好例および不応例の代表的なパターンを示す。反応良好例ではNの集団が急速に減少し、一方不応例ではHAS-flow 2Gのパターンに変化は見られない。33例のうち移植直前のHASが解析されている症例は13例であり、移植前化学療法反応性との相関、および移植予後との関連を現在解析中である。

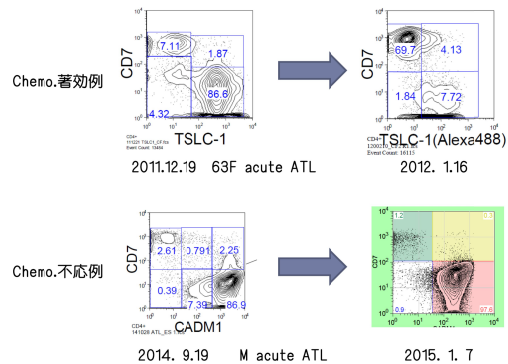


図6 化学療法反応例および不応例のHAS-flow 2Gパターンの変化

D. 考察

Aggressive ATL に対する化学療法の成績に限界が見られている現状で、造血幹細胞移植は期待される治療法と位置づけられている。しかし、aggressive ATL に対する治療戦略に造血幹細胞移植を組み込むにあたってはいくつかの解決すべき課題がある。第一は造血幹細胞移植が aggressive ATL の予後を改善する与否が、比較試験の成績が存在しないため確立していない点である。化学療法の成績が不良である現在、randomized control study の実施は困難であり、JCOG0907 として観察研究が行われている。今回の研究は比較試験ではないが、全例に対して造血幹細胞移植を前提に早期からドナー検索を開始し、ドナーが得られ次第移植を施行する治療戦略により3年の全生存率41.5%と historical control としての mLSG15 の成績と比べて良好な成績を収めており、造血幹細胞移植を組み込んだ治療戦略の優位性を示唆している。今回の研究ではこの点に関してさらに臨床決断分析による研究が進行中であり、この点に関して一定の結論が出ることが期待される。第2の問題点は移植施行率の低さである。前記の通り移植自体の治療戦略における位置づけが確立していないため、first line で移植を組み込むことが必ずしも標準ではないことが移植施行率が低い要因の一つと考えられるが、全例移植の方針で治療を開始した今回の研究において移植非施行理由の半数が ATL の再燃であったことから、移植までの期間の短縮が移植施行率の向上に重要であることがわかる。ATL は化学療法抵抗性を獲得するまでの期間が短い症例が多く、多くの症例は化学療法の進行過程で治療抵抗性となってくる。今回の検討でも、ATL 再燃例の再燃までの期間の中央値は130日であった。今回の研究における治療開始から移植までの期間の中央値は166日と比較的短期間であり、そのことが68.9%という高い移植施行率につながっていると考えられるが、再燃例における再燃までの期間を考慮すると、この期間を短縮することにより移植施行率

を上昇させることで、さらに治療成績を改善させられることが期待される。

ATL 患者が比較的高齢であり、今回の研究でも半数は60歳以上であることから血縁ドナーを得られる可能性は低く、今回の対象でも血縁ドナーは5例のみで残り26例は非血縁ドナーである。そのため、移植までの期間の短縮には限界があり、代替ソースによる移植を検討する必要がある。ATL に対する臍帯血移植は Hishizawa らによる本邦のデータの解析によれば(Hishizawa M et al. Blood; 116: 1369-1376, 2010)、骨髄、末梢血幹細胞に比して成績が悪く、リスクファクターの一つにあげられている。一方、化学療法により病勢コントロールが良い状態で試行した場合には50~60%台の長期生存という良好な成績が得られる可能性が報告されており(Nakamura T, et al. Int J Hematol. 2012;96:657-663., Fukushima T, et al. Int J Hematol. 2013;97:485-90.)、これらの報告では臍帯血移植までの期間はそれぞれ114日、130日であった。臍帯血以外の代替ソースとして、各種血液悪性腫瘍に対するハプロ一致移植の有用性が報告されつつあり、これらの代替ソースを用いて、病勢コントロールが悪化する前に移植を施行するという治療戦略が考えられる。この場合、代替ソースを用いる決断をどのように行うかということが課題になる。

我々が開発した HAS-flow 2G 法は HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程の解析に有用であることを報告してきたが、図6に示す通り化学療法

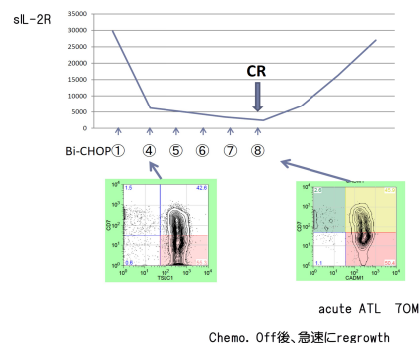


図7 CR達成後急速に増悪した1例

に対する反応性、病勢のコントロール状態を反映する可能性が示唆されている。さらに図7に示すように、臨床的にCRであってもHAS-flow 2Gのパターンの改善のない症例では早期に増悪する例が見られ、HAS-flow 2Gは臨床的診断以上に鋭敏に病勢コントロールを評価できる可能性が示唆される。本研究において後ろ向き解析によりHAS-flow 2G法による病勢評価、移植予後の推定の有用性を検討するとともに、本研究班におけるaggressive ATL前向きコホート研究において登録例の検体を解析、データ収集し、移植予後との関連を前向きに検討することを計画中である。HAS-flow 2Gによる病勢コントロールの評価と移植予後の推定が可能になれば、化学療法試行中、病勢をHAS-flow 2Gによりフォローすることにより、代替ソースによる移植に踏み切る判断材料とすることが可能となる。

本研究において移植例の成績は良好であり、特にCR、PRで試行した群の成績は良好である(図2、図3)。CR、PRで移植を施行した症例の成績はこれまでのCR、PRでATLに対して移植を施行した報告と比較しても良好であり、今回の研究における治療開始から移植までの期間が短いことが関係している可能性がある。同じ臨床的CR、ないしPRでも病勢のコントロール状況に違いがあった可能性があり、HAS-flow 2Gなどによる評価により検討してみる必要がある。また、治療開始と同時にドナー検索を開始し、ドナーが得られ次第適応があれば移植を施行する治療方針によって、移植施行率の向上のみではなく、移植の成績そのものも改善する可能性を示唆する。

E. 結論

Aggressive ATLに対し、治療開始と同時にドナー検索を開始し、ドナーが得られ次第造血細胞移植を施行する治療戦略により良好な治療成績を得た。移植施行率を高めるためには病勢コントロールがついているうちに移植を施

行することが必要であり、そのために臍帯血、ハプロ一致ドナーなど代替ソースの利用を検討することが検討する必要がある。HAS-flow 2G法によるmulti-color FACSによって化学療法によるATLの病勢のコントロール状態の評価が可能であることが期待され、代替ソースによる移植を決断する判断材料になると考えられる。本法に有用性を評価するために、aggressive ATL前向きコホート研究において登録例の検体を解析、データ収集し、移植予後との関連を前向きに検討することを計画中である。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

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 Oct 4; 3:581. doi: 10.1186/2193-1801-3-581. eCollection 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 Oct 12. doi: 10.1111/ijlh.12302. [Epub ahead of print] No abstract available.
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. 2015 Jan 1;53(1):85-93. doi: 10.1515/cclm-2014-0183.
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.* 2014 Sep;105(9):1160-9. doi: 10.1111/cas.12480. Epub 2014 Sep 8.
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 down regulation of CD7 are closely associated with clonal expansion of HTLV-I-infected cells in adult t-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2014 Jun 1;20(11):2851-61. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3169. Epub 2014 Apr 11.
 6. Takaaki Konuma, Seiko Kato, Jun Ooi, Maki Oiwa-Monna, Yasuhiro Ebihara, Shinji Mochizuki, Koichiro Yuji, Nobuhiro Ohno, Toyotaka Kawamata, Norihide Jo, Kazuaki Yokoyama, Kaoru Uchimaru, Arinobu Tojo, and Satoshi Takahashi. Impact of sex incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation for adult patients with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2014 May;49(5):634-9. doi: 10.1038/bmt.2014.10. Epub 2014 Feb 17
 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.* 2014 Apr;20(4):577-81. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.12.563. Epub 2013 Dec 22.
 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.* 2014 Mar;20(3):396-401. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.12.555. Epub 2013 Dec 11
 9. Kobayashi Seiichiro, Watanabe Eri, Ishigaki Tomohiro, Ohno Nobuhiro, Yuji Koichiro, Nakano Kazumi, Yamochi Tadanori, Watanabe Nobukazu, Tojo Arinobu, Watanabe Toshiki, Uchimaru Kaoru. Advanced HTLV-1 carriers and early-stage indolent ATLs are indistinguishable based on CADM1 positivity in flow cytometry. *Cancer Science.* in press. 2015
 10. 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
 11. 内丸 薫 成人T細胞白血病(ATL)検査と技術 42 ; 1370-1375, 2014
 12. 内丸 薫 成人T細胞白血病 *medicina* 52 (4) in press
- ## 2. 学会発表
1. 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 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 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
 2. Tumor-specific gene expression leads to p38 and Hedgehog activation in adult T-cell leukemia. Yamagishi M, Takahashi R, Sakai N, Fujiwara D, Nakagawa S, Yamochi T, Yamachi T, Nakano K, Uchimaru K, Utsunomiya A and Watanabe T. 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
 3. A nationwide study of patients with adult T-cell leukemia/lymphoma(ATL) in Japan:2010-2011. Noasaka K,
 4. 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. 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
 5. ESHAP regimen as salvage therapy for patients with relapsed or refractory adult T cell leukemia. 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. 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
 6. Differential diagnosis of by flow

- cytometric analysis of post allo-SCT myelopathy; a case report
Kawamata T, Ohno N, Sato K, Kobayashi M, Jo N, Yuji K, Tanosaki R, Yamano Y, Uchimaru K and Tojo A. 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
7. Impact of clearance of blasts from peripheral blood during induction chemotherapy of AML. Konuma T, Kato S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Yokoyama K, Jo N, Uchimaru K, Takahashi S and Tojo A. 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
 8. Scouting risk factors for CMV and HBV reactivation in 4,631 non-transplant malignant lymphoma cases. Ohshima Y, Tanimoto T, Yuji k, Uchimaru K, Takahashi S and Tojo A. 第76回日本血液学会学術集会 大阪 2014
 9. 急性型ATLとHTLV-1ぶどう膜炎の同時発症の1例. 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. 第1回日本HTLV-1学会学術集会 東京 2014
 10. 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. 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. 第1回日本HTLV-1学会学術集会 東京 2014
 11. Hierarchical clustering analysis of surface antigens on ATL cells and search for AT- initiating cell marker. Ishigaki T, Kobayashi S, Nakano N, Utsunomiya A, Uchimaru K and Tojo A. 第73回日本癌学会学術総会 横浜 2014.
 12. The BRAF-V600E mutation in circulating cell-free DNA is a promising biomarker of high-risk adult Langerhans cell histiocytosis. Kobayashi M, Ohno N, Fukuyama T, Kawamata T, Uchimaru K, Tojo A. The 56th ASH Annual Meeting and Exposition. San Francisco, CA, 2014.
 13. Comprehensive Analysis of Surface Antigens on Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATL) Cells and Search for ATL-Initiating Cell Markers. Ishigaki T, Uchimaru K et al. The 56th ASH

Annual Meeting and Exposition. San Francisco, CA, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
特許出願番号 特願 2013-034326
名称 患者検体を用いたHTLV-1キャリア、成人T細胞白血病の発癌過程進行度又は悪性度の評価法
発明者 内丸 薫、小林誠一郎、渡辺信和
2. 実用新案登録
3. その他

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

分担研究「成人T細胞白血病の患者検体を用いたゲノム解析などの
付随研究の実施および検体バンキング基盤の確立」

研究分担者

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

研究要旨：登録献体のバンキングについてBBJへのバンキング方法を検討したが、当面は既存の共同研究組織JSPFADのシステムを利用してダブルバンキングの形で検体登録を行い、将来の統合に備えることとした。付随研究としては、検体登録開始前のため、ゲノム解析は次年度以降に開始することとし、遺伝子発現解析とクローナリティ解析については、JSPFADの既存検体を用いて試験的な実験を開始した。遺伝子発現異常の例としてc-Mybのisoformの過剰発現とその意義について検討し、クローナリティ解析では、39検体のパイロット解析から、臨床病型とクローナリティの間の相関について更に検討すべき課題があることが示された。

A．研究目的

本研究班の目的は、アグレッシブATLに対する治療法の有力な選択肢である造血幹細胞同種移植法について、適応症例の適切な選択と最適なタイミングで安全性の高い同種移植を行えるシステムを構築することを目指す。検体バンキング基盤と付随研究により、治療選択の根拠となるマーカーを明らかにし、各症例毎に治療法の最適化を可能にすることを目指す。これらを通じて、aggressive ATLに対する治療成績を短期間で向上させることを目標とする。

本分担研究は、(1)検体バンキング基盤の確立と、(2)以下の付随研究課題、を遂行する。
1) ATL細胞のゲノム異常解析、2) ATL細胞の遺伝子発現とクローナリティ解析。

B．研究方法

(1) 検体バンキング基盤の確立

本研究において、前向き登録された患者のATL細胞検体および移植後に定期的に収集し

た検体とドナー検体の一部をBBJにバンキングすることを目指す。これを可能にするため、現状のBBJの運用体制の改定を目指す。まず、問題点の明確化と必要な体制整備の項目を検討する。一方、既存の全国共同研究組織JSPFADが構築し運用している検体収集とバンキングシステムについては、将来的にBBJへ統合することを視野に入れて、運用方法に関して具体的な方策の検討を進める。

(2) 付随研究

1) ATL細胞のゲノム異常解析

臨床研究開始後は、前向きに登録された患者検体のATL細胞と類粘膜検体(germline)を用いて、エクソーム解析、全ゲノム解析およびエピジェネティクス解析を行い、遺伝子変異やエピジェネティクス異常のデータ収集を開始する。これにより、将来的に臨床経過情報とゲノム異常との関係の統合的解析を可能にする。
登録検体解析前の今年度は、JSPFADに登録

されている検体を用いて、種々の臨床病型の患者末梢血中の ATL 細胞検体と、multicolor FACS (HAS-2G 法) によって分画された検体を用いてエクソーム解析と全ゲノム解析のパイロット的な解析を行い基礎データの取得を目指す。

2) ATL 細胞の遺伝子発現とクローナリティ解析

上記と同様に、臨床研究の検体登録開始前の今年度は、JSPFAD に登録されている検体を用いて、種々の臨床病型の患者末梢血中の ATL 細胞検体と、multicolor FACS (HAS-2G 法) によって分画された検体を用いてパイロット的な解析を行い基礎データの取得を目指す。

遺伝子発現解析：遺伝子発現アレイ解析 (mRNA, miRNA) および次世代シーケンサーを用いた RNAseq などにより発現している RNA の量的および質的異常の特徴を検討する。

クローナリティ解析：我々が開発した定量性に優れた方法によるクローナリティ解析システムである NGS Tag-mediated Clonality Analysis System (NGS-TagCAS)を用いて、各病態における HTLV-1 感染細胞のクローン性増殖の実態を解析する。

(倫理面への配慮)

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C. 研究結果

(1) 検体バンキング基盤の確立

現状の BBJ の運用体制は、固形癌の組織から抽出された DNA サンプルと一部のホルマリン固定標本の受け入れと保存を前提としている。これらの検体運搬と DNA 抽出は検査会社に委託する体制になっている。一方、本研究の付随研究では、ATL 細胞の免疫学的解析、マルチカラー-FACS 解析、遺伝子発現解析などが、重要な解析項目となることから、現状の BBJ バンキングシステムは、目的にそぐわない。従

って、BBJ のバンキング検体の種類および検体の運搬システムの改変を行い、生細胞の運搬と解析を可能にしつつ、バンキング用の検体も確保する柔軟な制度が必要である。これらを含めて、現状の BBJ のシステムに関して、本研究計画の立場から、問題点の整理を行い、BBJ 運用方式の改定により対応が可能な部分と、別途、本研究計画遂行のために整備すべき体制を検討する必要性が明らかになった。

一方、HTLV-1 キャリアと関連疾患患者の参加によって運用されている、既存の全国共同研究組織 JSPFAD は、全国の協力施設から、研究協力者の末梢血検体を定期的に(原則として 1年に1回)採取し当分担研究者の渡邊の研究室へ集約し、単核球の分離、DNA 抽出、プロウイルス量の定量および血漿の保存を行っている。すでに延べ約 10,000 検体が集積されており、年間 1000 検体以上が登録される。この現行の共同研究体制とバンキングシステムを有効に活用し、将来的に BBJ へ統合することを視野に入れて、運用方法に関して具体的な方策の検討を進めた。

検討の結果、本研究の登録患者の検体を、既存の JSPFAD 共同研究にも登録し、将来 BBJ へ統合できるダブルバンキング体制をとること、JSPFAD の検体運搬法に関して、当研究計画の目的に合わせた第 2 の運搬方法を組み込むことにより、目的が達成できるとの結論になった。この結論に基づき、運用体制の詳細についての検討を開始した。

(2) 付随研究

1) ATL 細胞のゲノム異常解析

前向きに登録された患者検体の ATL 細胞と類粘膜検体 (germline) のエクソーム解析、全ゲノム解析およびエピジェネティクス解析を行い、遺伝子変異やエピジェネティクス異常のデータ収集を開始し、将来的に臨床経過情報とゲノム異常との関係の統合的解析を可能にするデータの取得を始める。

2) ATL 細胞の遺伝子発現とクローナリティ解析

今年度は、登録検体がなかったため、新規のアレイ解析は実施しなかったが、RNA 発現の量的および質的異常について解析を進めるため、分担研究者が解析しデータベースに登録済みの情報に基づき、JSPFAD の検体を用いて、幾つかの遺伝子の発現解析を行った。中でも、c-Myb の種々のアイソフォームの過剰発現の実態を明らかにし特に oncogenic isoform とされる c-Myb9A の過剰発現と下流のシグナル伝達系の異常を明らかにした（投稿中）。

クローナリティ解析については、我々が開発した定量性に優れた Clonality 解析法 (NGS-TagCAS 法) を用いて、JSPFAD に登録されている以下の既存検体を用いて基礎的データの収集を行った。

解析検体内訳：

HTLV-1 キャリア 12 検体

くすぶり型 ATL 7 検体

慢性型 ATL 12 検体

急性型 ATL 8 検体

さらに各病態と病系について検体数を増やして検討予定であるが、現在までに、以下のような情報が得られている。

臨床的に無症候性キャリアとされる検体は、polyclonal な増殖を示す。くすぶり型 ATL の検体は、polyclonal 増殖と oligoclonal 増殖を示す例が混在する。慢性型 ATL の検体は、monoclonal 増殖と oligoclonal 増殖を示す検体がある。急性型 ATL の検体は monoclonal 増殖である。

また、経時的に解析できた 2 検体のうち 1 例は major クローンが入れ替わっていることが示唆された。

D. 考察

検体バンキング基盤の確立：

BBJ のバンキングシステムの早急な改変が困難であることと、本研究の目的に合った形で体制整備には時間がかかることが明らかに

なった。将来的な BBJ への登録を見据えて、既存の JSPFAD システムとの統合に向けた準備を開始すること、そのためには当面、ダブルバンキング体制を構築して対処することとした。

付随研究

1) ATL 細胞のゲノム異常解析

本研究課題の検体が入手できなかったため、エクソーム解析や全ゲノム解析の実施は次年度以降となる。検体登録開始に合わせて、速やかに解析を進めるための体制整備を進める必要が有る。

2) ATL 細胞の遺伝子発現とクローナリティ解析

発現アレイ解析は登録検体がある次年度以降の課題として、分担研究者らが登録した既存のデータベースを基盤に、個別の遺伝子に注目した解析を進めた。c-Myb の高発現と isoform ごとの発現異常が明らかになり、ATL 細胞における遺伝子発現とシグナル伝達異常の実態解明に新たな情報が得られた。

JSPFAD を用いた試験的な Clonality 解析を進めたが、臨床診断と clonality pattern の間の関係に興味有る情報が得られている。臨床病型分類の見直しにつながる可能性がある知見と考えられるので、次年度以降に検体数を増やして情報の蓄積を行い、臨床的な意義を検討する予定である。

E. 結論

バンキング体制の整備に向けて、問題点の整理と今後の方針について明らかにすることができた。

検体登録前の状態で、可能な範囲の試験的解析を行い情報の蓄積を行った。遺伝子発現及びクローナリティ解析が、分子病態の把握と最適治療法の選定に有用なバイオマーカー探索につながる可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌（全て査読有）

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* 53(2):587-596, 2015 (doi: 10.1128/JCM.02254-14)
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):1160-1169, 2014 (doi: 10.1111/cas.12480)
- 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, U.S.A., Dec. 7, 2014 (Dec. 6- Dec. 9, 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, U.S.A., Dec. 7, 2014 (Dec. 6- Dec. 9, 2014) (Oral/Poster)
3. Okayama A, Iwanaga M, Sagara Y, Hidaka T, Umekita K, Nakano K, **Watanabe T**, Yamano Y, Horai Y, Nakamura H, Kawakami A, “Human T-Lymphotropic Virus Type 1 Biomarkers in Patients with Rheumatoid Arthritis”, ACR/ARHP Annual Meeting, Boston, U.S.A., Nov 18th, 2014 (Poster)

和文雑誌

1. **渡邊俊樹**、III 章. 主要な感染症（原因微生物毎）J. RNA ウイルス感染症「ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型感染症（Human T-cell leukemia virus type Infection）」, 日本医師会雑誌『感染症診療 update』, 143 巻・特別号（2）: 394-397、2014 年

1. 学会発表

（国際学会）

1. Kataoka K, Nagata Y, Kitanaka A, Sato-Otsubo

（国内学会）

1. 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 依存の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、パシフィコ横浜、横浜、2014 年 11 月 25 日(2014 年 11 月 25 日～27 日)(ポスター)

2. Sanaz Firouzi, Tadanori Yamochi, Osvany Lopez, Yutaka Suzuki, Kenta Nakai, Sumio Sugano, **Toshiki Watanabe**, "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、パシフィコ横浜、横浜、2014 年 11 月 27 日 (2014 年 11 月 25 日~27 日)(ポスター)
3. 相良康子、井上由紀子、守田麻衣子、後藤信代、岩永正子、矢持忠徳、**渡邊俊樹**、浜口功、相良康弘、清川博之、「HTLV-1 PVL と HLA Class I 結合 peptide の乖離時間との関連」第 62 回日本ウイルス学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014 年 11 月 11 日 (2014 年 11 月 10 日~12 日)(一般口演)
4. 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、大阪国際会議場、大阪、2014 年 11 月 1 日 (2014 年 10 月 31 日~11 月 2 日)(一般口演)
5. 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、「全国医療機関における成人 T 細胞白血病・リンパ腫(ATL)患者の実態調査：2010 年~2011 年」、第 76 回日本血液学会学術集会、大阪国際会議場、大阪、2014 年 11 月 1 日 (2014 年 10 月 31 日~11 月 2 日)(一般口演)
6. Yamagishi M, Takahashi R, Sakai N, Fujikawa D, Nakagawa S, Yamochi T, Yamochi T, Nakano K, Uchimarui 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、大阪国際会議場、大阪、2014 年 11 月 1 日 (2014 年 10 月 31 日~11 月 2 日)(一般口演)
7. Nagata Y, Enami T, Sakata-Yanagimoto M, Kataoka K, Kitanaka A, Sato A, Shiraiishi 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、大阪国際会議場、大阪、2014 年 11 月 1 日 (2014 年 10 月 31 日~11 月 2 日)(一般口演)
8. Kataoka K, Nagata Y, Kitanaka A, Sato-Otsubo A, Totoki Y, Yasunaga J, Sanada M, Shiraiishi 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、大阪国際会議場、大阪、2014 年 11 月 1 日 (2014 年 10 月 31 日~11 月 2 日)(一般口演)
9. 永田安伸、榎並輝和、坂田(柳元)麻実子、片岡圭亮、北中明、佐藤亜以子、白石友一、眞田昌、宮野悟、下田和哉、**渡邊俊樹**、千葉滋、小川誠司、「成人 T 細胞白血病/リンパ腫と他の末梢性 T 細胞性腫瘍における RHOA の特徴的な変異分布と生物学的機能の解析」第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014 年 9 月 26 日 (2014 年 9 月 25 日~27 日)(口演)
10. **渡邊俊樹**、山岸誠、「ATL 発症の基盤となるゲノム・エピゲノム異常の解析」、シンポジウム: 16 .ATL 発がん機構と治療の新展開、第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014 年 9 月 25 日 (2014 年 9 月 25 日~27 日)(招待口演)
11. 片岡圭亮、永田安伸、北中明、佐藤亜以子、十時康、安永純一郎、油谷浩幸、宮野悟、**渡邊俊樹**、松岡雅雄、柴田龍弘、下田和哉、小川誠司、「成人 T 細胞白血病/リンパ腫におけるゲノム異常の網羅的解析」シンポジウム: 16 .ATL 発がん機構と治療の新展開、第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014 年 9 月 25 日 (2014 年 9 月

25日～27日)(シンポジウム口演)

12. 藤川大、山岸誠、中川翔太、黒川直也、副島あい、石田尚臣、田中勇悦、中野和民、**渡邊俊樹**、「ATL細胞におけるEZH2依存的エピジェネティック異常の包括的解析」第73回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014年9月25日(2014年9月25日～27日)(ポスター)
13. 矢持忠徳、守田陽平、矢持淑子、Sanaz Firouzi、佐々木陽介、渡辺信和、内丸薫、宇都宮與、**渡邊俊樹**、「Putative ATL tumor initiating cellsの解析」第73回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014年9月25日(2014年9月25日～27日)(ポスター)
14. Sanaz Firouzi, Tadanori Yamochi, Yosvany López, Yutaka Suzuki, Kenta Nakai, Sumio Sugano, **Toshiki Watanabe**, “A new high-throughput method to investigate the clonality of HTLV-1-infected cells based on provirus integration sites”, 第73回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、横浜、2014年9月25日(2014年9月25日～27日)(ポスター)

1. (その他)

1. **渡邊俊樹**、「HTLV-1の病原性発現機構とATLの発症機構」第5回病原微生物部門セミナー、山口大学農学部、山口、2015年1月20日(招待講演)
2. **渡邊俊樹**、「ATL発症機構の解析に基づく発症予防・新規治療法の探索」第13回さいたま血液勉強会、大日本住友製薬(株)主催、大日本住友製薬(株)埼玉支店、埼玉、2014年11月14日(招待講演)
3. **Watanabe T**, “Molecular mechanisms of leukemogenesis of adult T-cell leukemia (ATL) caused by HTLV-1”, 2d IARI Symposium, Lyon, France, Nov. 3 (Nov. 3-4), 2014
4. **渡邊俊樹**、「ATL発症機構の解析に基づく発症予防法と治療法の開発」ATL学術集会、協和発酵キリン(株)主催、盛岡グランドホテル、岩手、2014年10月9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

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 ATLのバンキングとマーカー、遺伝子解析

研究分担者 村上 善則 東京大学医科学研究所・教授

研究要旨：骨髄移植前後の ATL細胞のマーカー分子発現解析、シーケンス解析を可能とするために、ATL細胞や非腫瘍部試料を系統的にバイオバンクジャパンにバンク化するための基盤的条件検討を行った。また、ATL細胞で特異的に発現し、診断マーカーとして用いられる CADM1タンパク質に対する複数種のモノクローナル抗体をマウスで作成した。さらに、MT2細胞を用いた細胞生物学的解析、またマウスを用いた転移実験により、CADM1がMT2細胞のin vitroの浸潤活性、またNOG マウスでの尾静脈から肝臓への細胞の生着、血管外への湧出を促進し、結果として肝臓への実験的転移を促進することを示した。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者の移植前後の遺伝子異常、マーカー変化を系統的に解析するために、ATL 腫瘍細胞、非腫瘍部組織、各 DNA などをバイオバンクジャパンと連携してバンク化して解析するシステムを構築する。また、ATL 細胞で特異的に発現し、診断マーカーとして用いられる CADM1 タンパク質に対するモノクローナル抗体を作成して、ATL の診断、治療への応用を目指す。さらには CADM1 の ATL における病的意義を明らかにする。

B. 研究方法

ATL 細胞のバンキングシステムの構築：

本研究班の前向きコホート研究に登録された症例の臨床情報と生体試料を、ATL の研究に沿う形でバイオバンクジャパンにバンキングする方針、手順 (SOP) について検討した。

抗 CADM1 マウスモノクローナル抗体

の作成：

Cadm1 遺伝子欠損マウスを Balb/c 系統に戻し交配して得たマウスを用いて、哺乳類細胞に発現させ、培養上清より精製した CADM1 断片を免疫原として免疫し、抗 CADM1 モノクローナル抗体を作成した。

CADM1 による ATL 細胞の転移抑制：

CADM1 の発現抑制は、2 つの shRNA である shCADM1-5, shCADM1-8 と GFP 発現細胞を細胞にエレクトロポレーション法により導入し、安定発現細胞株を樹立することにより行った。ヒト臍帯血内皮細胞 (HUVEC) との細胞接着活性は、ATN-1, MT-2 細胞を各々 HUVEC 上に共培養して行った。In vitro 細胞増殖アッセイは5日間、トリパンブルー排除法により細胞数を計測して行った。多臓器浸潤のモデル実験は、NOG マウスの尾静脈に MT-2 細胞を注入し、24 日後に解剖して検討した。初期の肝臓への浸潤の評価は、細胞を NOG マウス尾静脈に注入し、24 時間後

に解剖し、共焦点顕微鏡により行った。

(倫理面への配慮)

東京大学医科学研究所倫理審査委員会の承諾を得て、本研究を行った(承認番号 24-34-1004)。

C. 研究結果

ATL 細胞のバンキングシステムの構築:

ATL の研究に沿う形で腫瘍組織、非腫瘍部組織をバイオバンクジャパンにバンキングするための SOP を共同で作成した。また、ATL 検体の既存バンクである JSPFAD と連携して、ダブルバンキングする方針を決定した。

抗 CADM1 マウスモノクローナル抗体の作成:

Cadm1 遺伝子欠損マウスを免疫することにより、合計 60 種の抗 CADM1 モノクローナル抗体を得た。その一部にあたる 6 種に関して、クローン化を終了した。

CADM1 による ATL 細胞の転移抑制:

shCADM1-5, shCADM1-8 は、HTLV-1 トランスフォーム細胞 MT-2 に導入することにより、CADM1 タンパク質発現を各々 50%, 30% 低下させた。次に MT-2/shCADM1-5, MT-2/shCADM1-8、と HUVEC を共培養すると、MT-2 に shControl をトランスフェクションした細胞 MT-2/shControl と比較して、各々 20%, 20% 細胞接着能が低下した。ATL 細胞 ATN-1 に shCADM1-5, shCADM1-8 を導入した実験でも同様の傾向を示した。

次に、MT-2/shCADM1-5、MT2/shControl を各々 NOG マウスの尾静脈に注入後、24 日後に解剖して検討した

ところ、MT2/shCADM1-5 導入マウスでは、MT2/shControl 導入マウスと比較して、有意な体重減少、肺、肝臓、脾臓への浸潤の低下が認められた。さらに肝臓では壊死を示す領域の減少を認めしたが、血管密度、腫瘍細胞の Ki67 陽性細胞には有意な変化は認めなかった。

次に、ATL モデルにおける早期の細胞接着と血管外侵出への CADM1 の意義を検討するために、MT2/shCADM1-5-GFP 細胞、MT2/shControl-GFP 細胞を NOG マウスに注入し、26 時間後に解剖して肝臓組織に関して共焦点顕微鏡にて観察したところ、GFP 陽性細胞の血管内から血管外への侵出は、前者の細胞で有意に高かった。

D. 考察

本研究班の前向きコホート研究に登録された ATL 患者の移植前後の遺伝子異常、マーカー変化を系統的に解析するためには、ATL 腫瘍細胞、非腫瘍部組織、各 DNAなどをバイオバンクジャパンと連携してバンク化して解析するシステムを構築することが必須である。そこで、本分担研究ではこのシステムを構築することを初年度の目的とし、SOP を共同で構築した。この過程で、従来のバイオバンクジャパンがゲノム疫学を想定して構築された組織であるため、臨床研究を進める際に必須、かつ有用となる各腫瘍の指標や試料の収集が、各々特徴的であることが改めて浮き彫りになった。そこで ATL に関しては、既存の ATL バンクである JSPFAD との連携により、ダブルバンキングを行う方針を決定し、次年度以降に具体的な試料移管を進める予定である。

一方、ATL 細胞の特異診断マーカーとして CADM1 が確立され、抗 CADM1 抗体を用いた FACS による診断が実用

化してきた。分担研究者は CADM1 を同定し、ATL での特異的発現についても共同で報告した実績がある。そこで本研究では、CADM1 が複雑な糖鎖修飾を受ける膜タンパク質であることから、新たな抗 CADM1 抗体の作成を目指し、6 種の抗体をクローン化して、現在その性質を検討中である。

また、CADM1 が ATL 細胞に特徴的な臓器浸潤や皮下浸潤を促進する可能性が示されている。そこで本研究では、CADM1 を共に高発現する ATL 患者由来腫瘍細胞 ATN-1, HTLV-1 感染細胞 MT-2 を用いて、CADM1 発現を shRNA により低下させた安定細胞株を作成し、in vitro, in vivo での増殖、浸潤活性を検討した。この結果、CADM1 は、in vitro では ATN-1, MT-2 細胞の HUVEC との接着能の亢進、in vivo (NOG マウス)での肺、肝臓、脾臓への浸潤、肝臓の壊死巣、さらには細胞注入 24 時間後における腫瘍細胞の血管外浸出を抑制することが示された。In vivo の実験は MT-2 細胞で得られたものではあるが、これらの結果は、ATL 細胞の悪性化、特に疾患に特徴的にみとめられる多臓器浸潤、皮下浸潤を、CADM1 発現が高めていることを示唆している。したがって CADM1 は、ATL の診断マーカーのみならず、治療の分子標的としても有用であることが示された。

E . 結論

ATL 試料のバイオバンクジャパンへのバンク化への道筋をつけた。また CADM1 が ATL の浸潤を促進することを示し、診断、治療の目的で、抗 CADM1 モノクローナル抗体を多数作成した。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Sakurai-Yageta M, Maruyama T, Suzuki T, Ichikawa K, Murakami Y. Dynamic Regulation of a Cell Adhesion Protein Complex Including CADM1 by Combinatorial Analysis of FRAP with Exponential Curve-fitting. **PLoS ONE**, in press.
2. Matsubara D, Murakami Y, Niki T. Immunohistochemical analysis of the expression of E-cadherin and ZEB1 in non-small cell lung cancer. **Pathology International**, in press
3. Ebihara Y, Iwai M, Akashi K, Ito T, Omura G, Saito Y, Yoshida M, Ando M, Asakage T, Yamasoba T, Murakami Y. High incidence of null-type mutations of the TP53 gene in Japanese patients with head and neck squamous cell carcinoma. **Journal of Cancer Therapy**, 5, 664-671, 2014. (doi.org/10236/jct2014.57075)
4. Wang F, Akashi K, Murakami Y, Inoue Y, Furuta T, Yamada H, Ohtomo K, Kiryu S. Detection of lung tumors in mice using a 1-Tesla compact magnetic resonance imaging system. **PLoS One**, 9, e94945, 2014. (doi: 10.1371/journal.pone.0094945).
5. Ibrahim R, Matsubara D, Osman W, Morikawa T, Goto A, Morita S, Ishikawa S, Aburatani H, Takai D, Nakajima J, Fukayama M, Niki T, Murakami Y. Expression of PRMT5 in lung

- adenocarcinoma and its significance in epithelial-mesenchymal transition. **Human Pathology**, 45, 1397-1405, 2014. (doi: 10.1016/j.humpath.2014.02.013).
6. Cortez VS, Cervantes-Barragan L, Song C, Gilfillan S, McDonald KG, Edelson BT, Murakami Y, Newberry RD, Sibley LD, Colonna M. CRTAM controls residency of gut CD4+CD8+T cells in the steady state and maintenance of gut CD4 TH17 during parasitic infection. **J Exp. Med.**, 211, 623-633, 2014. (DOI: 10.1084/jem.20130904).
 7. 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. (DOI: 10.1371/journal.pone.0082894.)
- ## 2. 学会発表
1. Ito T, Sakurai-Yageta M, Goto A, Murakami Y. Genomic and transcriptional alterations of cholangiocarcinoma. International Symposium for Biomarkers of Cholangiocarcinoma、東京都、2015年1月24日、招待講演。
 2. 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。
 3. Murakami Y. Involvement of a cell adhesion molecule CADM1 in oncogenesis. The 2nd International Alliance Research Internship Program Symposium of the University of Lyon. フランス、リヨン市、2014年11月3-4日、招待講演。
 4. Kogai H, Sakurai-Yageta M, Tauszig-Delamasure S, Mehlen P, Murakami Y. Involvement of CADM1 in apoptosis induction of detached epithelial cells as a new type of dependence receptor. The 20th International Charles Heidelberger Symposium on Cancer Research、チリ、アリカ市、2014年10月8-11日、招待講演。
 5. Murakami Y. Roles of a cell adhesion molecule CADM1 in epithelial integrity and malignant phenotype of cancer cells. The 73rd Annual Meeting of Japanese Cancer Association、横浜市、2014年9月26日、招待講義。
 6. Ito T, Kogai H, Murakami S, Sakurai-Yageta M, Matsubara D, Murakami D. Context dependent features of a cell adhesion molecule CADM1 in human oncogenesis. The 21st East Asia Joint Conference、京都市、2014年7月15-18日、招待講演。
- ## 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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立およびゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 HTLV-1感染細胞の動態とゲノム解析

研究分担者 松岡雅雄 京都大学ウイルス研究所・教授

研究要旨: ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)は生体内で感染細胞を増やすという戦略を取っている。感染細胞の増加は、ウイルス遺伝子の発現や宿主免疫応答によって規定されている。HTLV-1 bZIP factor (HBZ) は全てのATL症例、HTLV-1感染者で発現しているが、その免疫原性が低いことが知られている。マウスを使った実験によりHBZに対する細胞傷害性Tリンパ球が誘導可能であり、抗腫瘍効果を有することを明らかにした。また、細胞傷害性Tリンパ球が認識する主要ペプチドをマウス、ヒトで同定し、ELISPOTによる解析が可能であることを示した。

A. 研究目的

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は、感染細胞を介して感染するために、生体内では感染細胞を増やすという戦略を取っている。感染細胞の増殖は、ウイルス遺伝子の発現、宿主の免疫応答などによって規定されており、宿主免疫は ATL 細胞の増殖にも影響を与えている。我々は HTLV-1 がマイナス鎖にコードする HTLV-1 bZIP factor (HBZ) 遺伝子が全ての ATL 症例、感染者で発現していることを明らかにしてきた。そのため、HBZ は免疫療法の格好のターゲットになるものと期待される。本研究では HBZ に対する免疫誘導と、HBZ の腫瘍抗原としての可能性を検討した。

B. 研究方法

1) HBZ 発現ワクチニアウイルスによる免疫誘導: HBZ を発現するワクチニアウイルスを作製し、C57BL/6 マウスに接種し免疫を誘導した。脾細胞は CD4 又は CD8 を除去し、IFN- γ ELSIPOT アッセイを行った。脾細胞は

1 μ M overlapped peptide(20mer) と anti-CD28mAb(final 2 μ g/ml)の存在下で 6 時間刺激した。

2) 細胞障害性はフローサイトメトリーを用いて測定した。Ly5.1 マウスは rVV-HBZ で免疫し脾細胞を回収した。CD4T 細胞を除去後、1 μ M overlapped peptide と IL-2 の存在下で 1 週間培養し、effector 細胞とした。EL4 細胞 (Ly5.2)は 1 μ M overlapped peptide をパルスし、target 細胞とした。それらの細胞は混合後、6hr 培養して Ly5.2 陽性細胞でのアネキシン V 陽性細胞をフローサイトメトリーを使用して測定した。
$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{(E:T_{(x:1)} - E:T_{(0:1)})}{(100 - E:T_{(0:1)})} \times 100$$

(倫理面への配慮)

動物実験は、京都大学の承認を得て動物実験指針に則り行われた。

C. 研究結果

1) HBZ を発現するワクチニアウイルスを作製し、C57B/6 マウスに免疫した。Tax は 1 回の免疫で IFN- γ 産生細胞を

ELISPOT で確認できたが、HBZ は 6 回の免疫により検出された。HBZ が Tax と比較して免疫原性が低いことが確認できた。

2) HBZ で免疫したマウスの脾細胞を使って、HBZ ペプチドでパルスした EL-4 細胞への細胞傷害能が確認できた。同様に HBZ トランスジェニックマウスの CD4 陽性 T リンパ球に対する細胞傷害能を解析し、確認できた。このことから HBZ で免疫し誘導した T リンパ球は HBZ ペプチドを認識し、傷害することが確認できた。

3) HBZ トランスジェニックマウスから樹立した細胞株 (Ht48) を使い HBZ に対する細胞性免疫が腫瘍に作用するかを検討した。C57B/6 マウスを HBZ 発現ワクチニアウイルスで免疫した。その脾細胞を、Ht48 接種マウスに移入したところ、マウスの生存延長が認められた。従って、HBZ に対する細胞性免疫は HBZ を発現する腫瘍に対する抵抗性を賦与することが示された。

4) HBZ のペプチドを使い、マウス、ヒトで細胞傷害性 T リンパ球が認識する主要ペプチドを明らかにした。

D . 考察

HTLV-1 がコードするウイルスタンパク質に関しては、これまで Tax を中心に研究が進んできた。Tax は免疫原性が高く、細胞傷害性 T リンパ球の検出も容易である。しかし、ATL 症例では Tax を発現しないものも多く、免疫源としての問題点もあった。一方、HBZ は全ての症例で発現しているが、免疫原性が低いという問題点があった。しかし、感染細胞数 (プロウイルス量) は HBZ に対する細胞傷害性 T リンパ球によって規定されているという報告もあり、生体内で有効に働いている可能性が示唆され

ていた。今回の研究で、HBZ ワクチニアウイルスを反復して接種することにより HBZ に対する免疫応答を誘導することが可能であることが示された。また、細胞傷害性 T リンパ球が認識する主要ペプチドを同定したことにより、ヒトでも HBZ に対する細胞傷害性 T リンパ球を ELISPOT で検出することが可能となった。

E . 結論

HBZ に対する細胞傷害性 T リンパ球が誘導可能であり、腫瘍に対して抑制効果があることが示された。また、ヒトにおいても HBZ に対する細胞傷害性 T リンパ球の検出が可能となった。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Ma G, Yasunaga J-I, Akari H, and Matsuoka M. TCF1 and LEF1 act as T-cell intrinsic HTLV-1 antagonists by targeting Tax. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, (in press).
2. Takachi T, Takahashi M, Takahashi-Yoshita M, Higuchi M, Obata M, Mishima Y, Okuda S, Tanaka Y, Matsuoka M, Saitoh A, Green P, Fujii M. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax oncoprotein represses the expression of the BCL11B tumor suppressor in T-cells. **Cancer Sci**, (in press).
3. Kinpara S, Ito S, Takahata T, Saitoh Y, Hasegawa A, Kijiyama M, Utsunomiya A, Masuda M, Miyazaki Y, Matsuoka M, Nakamura M, Yamaoka S, Masuda T, Kannagi M. Involvement of double-stranded RNA-dependent protein kinase and anti-sense viral RNA in the constitutive NFκB activation in adult T-cell leukemia/lymphoma cells. **Leukemia** (in press).
4. Suehiro Y, Atsuhiko Hasegawa A, Tadafumi Iino T, Amane Sasada A, Nobukazu Watanabe N, Masao Matsuoka M, Ayako Takamori A, Ryuji Tanosaki R, Atae Utsunomiya A, Ilseung Choi I, Tetsuya Fukuda T, Osamu Miura O, Shigeo Takaishi

- S, Takanori Teshima T, Koichi Akashi K, Mari Kannagi M, Naokuni Uike N, Jun Okamura J. Clinical outcomes of a novel therapeutic vaccine with Tax peptide-pulsed dendritic cells for adult T-cell leukemia/lymphoma in a pilot study. **Br J Haematol** (in press).
5. Niederer HA, Laydon DJ, Melamed A, Elemans M, Asquith B, Matsuoka M, Bangham CR. HTLV-1 proviral integration sites differ between asymptomatic carriers and patients with HAM/TSP. *Virology J.* 11: 172, 2014.
 6. Lavorgna A, Matsuoka M, Harhaj EW. A critical role for IL-17RB signaling in HTLV-1 Tax-induced NF- κ B activation and T-cell transformation. *PLoS Pathogens* (in press).
 7. Cook LB, Melamed A, Niederer H, Valganon M, Laydon D, Foroni L, Taylor GP, Matsuoka M, Bangham CR. The role of HTLV-1 clonality, proviral structure and genomic integration site in adult T cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 123: 3925-3931, 2014.
 8. Furuta RA, Ma G, Matsuoka M, Otani S, Matsukura H, Hirayama F. Re-evaluation of screening of plasma positive for human T-cell leukemia virus type 1 using a luciferase immunoprecipitation system in blood donors. *Transfusion*, (in press).
 9. Zhao, T, Satou Y and Matsuoka M. Development of T cell lymphoma in HTLV-1 bZIP factor and Tax double transgenic mice. *Arch Virol*, 159: 1849-1856, 2014.
 10. Azuma Y, Kükenshöner T, Ma G, Yasunaga JI, Imanishi M, Arndt KM, Matsuoka M, and Futaki S. Controlling leucine-zipper partner recognition in cells through modifications of a-g interactions. *Chem. Commun.* 50: 6364-6367, 2014.
 11. Tanaka-Nakanishi A, Yasunaga J-I, Takai K and Matsuoka M. HTLV-1 bZIP factor suppresses apoptosis by attenuating the function of FoxO3a and altering its localization. *Cancer Res*, 74:188-200, 2014.
2. 学会発表
1. Masao Matsuoka. How Human T-cell Leukemia Virus Type 1 Causes Diseases: The 4th International Symposium on Carcinogenic Spiral Infection, Immunity, and Cancer, Keio Plaza Hotel Sapporo, Japan, February 10-11, 2014.
 2. 松岡雅雄: HTLV-1 感染が仕掛ける巧妙な罠: HBZ タンパク質: 成人 T 細胞白血病 (ATL) と原因ウイルス (HTLV-1) 「ATL 細胞の培養から始まった HTLV-1 研究: ATL シンポジウム、高新文化ホール(高知) 2014 年 5 月 24 日
 3. Masao Matsuoka. Mechanism of leukemogenesis by human T-cell leukemia virus type 1: The 12th Annual Meeting of Japanese Society of Medical Oncology. Fukuoka Sunpalace, Japan, July 17-19, 2014.
 4. 安永純一郎、園直希、馬広勇、萩谷啓太、松岡雅雄: 宿主 F-box タンパク質 FBXL11 は Tax と HBZ のユビキチン化を誘導し機能を活性化する: 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所 1 号館講堂 (東京) 2014 年 8 月 22 日-24 日
 5. 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雅雄、瀧口功: HTLV-1 モデルマウスである HBZ-Tg マウスにおける癌幹細胞の同定と機能解析: 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所 1 号館講堂 (東京) 2014 年 8 月 22 日-24 日
 6. 三田上侑生、安永純一郎、大島孝一、松岡雅雄: HTLV-1 bZIP factor が惹起する炎症には IFN γ が重要な役割を果たす: 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所 1 号館講堂 (東京) 2014 年 8 月 22 日-24 日
 7. Guangyong Ma, Jun-ichiro Yasunaga, Masao Matsuoka. TCF1/LEF1 are T-cell natural HTLV-1 Tax antagonists that restrict viral expansion in thymus. The 1st Annual Meeting of the Japanese Society of HTLV-1 and Associated Diseases. The Institute of Medical Science, Tokyo University, Japan, August 22nd-24th, 2014.
 8. 松岡雅雄: HTLV-1 による発がん機構: 第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜 (神奈川) 2014 年 9 月 25 日-27 日
 9. 川月章弘、安永純一郎、松岡雅雄: HTLV-1 bZIP factor (HBZ) は Rb タンパクと相互作用し、E2F-1/Rb 経路を改変する: 第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜 (神奈川) 2014 年 9 月 25 日-27 日
 10. 安永純一郎、松岡雅雄: 転写因子 TCF1、LEF1 は HTLV-1 Tax を阻害し未梢 T リンパ球への感染指向性に関与する: 第 73 回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜 (神奈川) 2014 年 9 月 25 日-27 日
 11. 三田上侑生、安永純一郎、大島孝一、松岡雅雄: HTLV-1 bZIP factor が惹起する炎症における IFN γ の役割: 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、パシフィコ横浜 (神奈川) 2014 年 11 月 10 日-11 月 12 日
 12. 菅田謙治、安永純一郎、三浦未知、明里宏文、小柳義夫、小原道法、松岡雅雄:

Anti-CCR4 抗体は Treg と感染細胞を同時に標的にする事で、STLV-1 自然感染ニホンザルでのウイルス特異的免疫反応を活性化させる：第 62 回日本ウイルス学会学術集会、パシフィコ横浜（神奈川）2014 年 11 月 10 日-11 月 12 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

1.特許取得

HTLV-1 関連疾患の予防及び / 又は治療用ワクチン（出願中）

2.実用新案登録

なし

3.その他

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立およびゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名：ATLのRNA発現解析による治療標的の探索

研究分担者：加藤 光次、九州大学病院血液腫瘍内科助教

研究要旨：難治性といわれ続けてきた ATL も、同種移植導入や新規薬剤開発により、一部で治癒が目指せる時代になった。しかし、その予後は依然不良である。治療成績向上のための今後の課題として、適切なリスク層別化を行なうこと、そして、分子標的を探索し、新規治療法を開発することが急務である。特に、抗 CCR4 抗体の効果が乏しいとされるリンパ腫タイプに注目し、リンパ腫病変の遺伝子プロファイリング解析を通して、予後層別化と新規の治療法を探索する。

A．研究目的

ATL のリンパ節病変の遺伝子プロファイリング解析から、予後層別化と新規の治療法を探索する。

B．研究方法

本研究では、nCounter system(NCS)を用いて、ATL の微小環境を含めた病変の遺伝子プロファイリングを試みる。RNA 断片化により困難な PCR 反応に依らない方法で直接 RNA 定量が可能な NCS は、formalin-fixed paraffin embedded tissue (FFPE)を用いた研究に極めて有用な新規核酸定量システムである。NCS を用いて、ATL リンパ節病変の腫瘍および微小環境の遺伝子プロファイリングを検討、予後層別化に有用な遺伝子を抽出する。特に、その機能が未だ解明されていない long non-coding RNA(LncRNA)の探索を NCS で行ない、機能解析を試みる。あわせて、これらで抽出された遺伝子を参考に、他の T 細胞性リンパ腫病変とも比較検討することで、T 細胞リンパ腫における ATL の特殊性も検討を加える。

（倫理面への配慮）

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C．研究結果

本研究班臨床試験でのリンパ腫検体の取り扱いにあたり、提出される FFPE から作製された未染プレパラート上の検体から抽出された RNA が抽出でき、NCS で検討できうるかを検証した。同一検体からの凍結検体、ブロック標本、未染プレパラートからそれぞれ RNA を抽出し、NCS にて約 50 遺伝子で検討したところ、各々で高い相関が見られた。前向き登録時のリンパ節検体提出および NCS 解析は、簡便な未染プレパラートで可能であることが検証できた。

現在、既存検体のリンパ節病変を用い、ATL および T 細胞性リンパ腫の NCS 解析を行ない、LncRNA を含む予後を規定する遺伝子の抽出を行っており、本研究班前向き試験での validation を行なう予定で準備を進めている。

D．考察

保存状態が懸念された未染プレパラートからも NCS を用いることで、十分な遺伝子解析が可能で、既存検体や臨床試験の検体での解析に有用である。

E．結論

NCS を用いた研究は、特に FFPE 検体を

用いるリンパ腫検体に有用である。

191-200

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. **Kato K**, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of Patients with Adult T Cell Leukemia/Lymphoma with Cord Blood Transplantation: A Japanese Nationwide Retrospective Survey. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014; 20: 1968-74.
2. **Kato K**, Ohno Y, Kamimura T, Kusumoto H, Tochigi T, Jinnouchi F, Kohno K, Kuriyama T, Henzan H, Takase K, Kawano I, Kadowaki M, Nawata R, Muta T, Eto T, Iwasaki H, Ohshima K, Miyamoto T, Akashi K. Long-term remission after high-dose chemotherapy followed by auto-SCT as consolidation for intravascular large B-cell lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2014; 49: 1543-4.
3. Kako S, Izutsu K, **Kato K**, Kim SW, Mori T, Fukuda T, Kobayashi N, Taji H, Hashimoto H, Kondo T, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Suzumiya J; on behalf of the Adult Lymphoma Working Group of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The role of hematopoietic stem cell transplantation for relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol.* 2015; 90: 132-8.

和文雑誌

1. **加藤光次**: 悪性リンパ腫、成人T細胞性白血病/リンパ腫(総説). *臨床血液* 2014; 55:

和文書籍

1. **加藤光次**: 造血幹細胞移植に伴う合併症に対して、抗凝固療法はどの程度期待できますか. P300-304, *ファーマナビゲーター-DIC* 編, 2014.

2. 学会発表

1. Shimoji S, Hashimoto D, **Kato K**, Tujigiwa H, Akashi K, Teshima T. Graft-Versus-Host Disease Targets Granulosa Cell of Ovarian Follicle and Causes Infertility after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 2015 BMT Tandem Meeting. San Diego, CA, USA, February 11-15, 2015. (Oral, Plenary)
2. Yoshimitsu M, Tanosaki R, **Kato K**, Ishida T, Choi I, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Uchida N, Moriuchi Y, Nagamura-Inoue T, Mori S, Sakamaki H, Atsuta Y, Utsunomiya A. Risk Stratification of Outcomes Among Patients with Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma Receiving Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Retrospective Analysis of the JSHCT ATL Working Group 2015 BMT Tandem Meeting. San Diego, CA, USA, February 11-15, 2015. (Oral)

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立およびゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 フローサイトメトリーによるATL細胞と免疫細胞の同時解析に関する研究

研究分担者 渡辺信和 東京大学医科学研究所 特任准教授

研究要旨：我々は成人T細胞白血病（ATL）に対する造血細胞移植の先行研究（ATL monitoring）において、フローサイトメトリー（FCM）を使用したATL細胞と制御性T細胞（Treg）の解析を行ない、移植前後のATL細胞のモニタリングに成功した。また、ATL細胞以外の正常なCD4⁺T細胞におけるTregフェノタイプの動態も解析したが、モガムリズマブ投与や急性GVHD発症との関連は認められなかった。

A．研究目的

造血細胞移植においてATL細胞と免疫細胞をより詳細に解析するマルチカラーFACS解析システムを確立し、移植前後における病態のモニタリングとメカニズムの解明を目指す。

B．研究方法

患者の末梢血からファイコール比重遠心法で単核細胞を分離し、蛍光標識抗体で染色してフローサイトメーター（BD FACS Aria II SORP、BD社）で測定した。得られたFACSデータはFlowJoソフトウェア（TreeStar社）で解析した。

（倫理面への配慮）

国立がん研究センターをはじめとする各医療機関において、研究計画書を倫理審査委員会に提出し、審査を受けて承諾されてから研究を開始した。担当医が患者に研究計画を説明し、同意を得てから採血した。

C．研究結果

ATL monitoring-01 から ATL monitoring-25 まで、計 25 名の登録があり、2013 年 5 月 14 日から 2015 年 2 月 20 日までの間に計 165 検体を

解析した。多くの症例で移植前と移植後早期のCD4陽性細胞中に有意な頻度のATL細胞が検出された。それらは移植後50日以降は急速に減少した。ATLの再燃とは無関係にTSLC-1陽性細胞が増加する症例がみられたが、それらの細胞はCD25が陰性であった。

モガムリズマブの投与と、非ATL細胞におけるTregフェノタイプ（真のTregを含む分画）の頻度との間には、明らかな相関関係は認められなかった。

D．考察

移植後50日以内にATL細胞フェノタイプが急速に減少する背景には、移植に伴うGVL効果が影響していると考えられる。

本臨床研究では、モガムリズマブ投与群は非投与群と比較して、急性GVHDが重症化する傾向が認められている（共同研究者からの情報）。そのため我々は、移植後における非ATL細胞におけるTregフェノタイプ（真のTregを含む分画）の頻度は、モガムリズマブ投与群で低下してい

るのではないかと予想していた。しかしながら、今回の解析では有意な相関は認められなかった。

その理由として、急性GVHDなどの激しい炎症が起こる場合、Tregはそれを抑えようとして増加する可能性があること、我々がTregの頻度を測定しているのは末梢血であり、実際に炎症が起こっている病巣局所とは異なること、などが考えられた。

E. 結論

TSLC-1 と CD7 を使用した ATL 細胞解析法は、ATL に対する造血細胞移植前後での ATL 細胞のモニタリングに有用であった。一方、ATL 細胞をのぞいた正常な CD4⁺T 細胞における Treg フェノタイプの頻度は、モガムリズマブ投与や移植後 GVHD の重症度との相関が認められなかった。急性 GVHD の重症度は、実際に炎症が起きている臓器組織から末梢血に漏れ出てくる低分子のマーカーの方が、よりよい指標となると思われる。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ishigaki T, Zaïke Y, Nojima M, Kobayashi S, Ohno N, Uchimaruru 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. 2014 Jul 23. pii: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2014-0183/cclm-2014-0183.xml. doi: 10.1515/cclm-2014-0183. [Epub ahead of print] PMID: 25060346 [PubMed - as supplied by publisher]
- 2) 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, Uchimaruru 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): 2851-2861, 2014.

2. 総説と著書

1) 佐藤奈津子、渡辺恵理、石垣知寛、**渡辺信和**：BD FACS™ を用いたマルチカラー解析による ATL 患者のモニタリング(著書) BD Science Avanzato, Vol. 9, 1-8, 2014.

2) 渡辺恵理、佐藤奈津子、**渡辺信和**：臨床への応用 -患者の病態をリアルタイムで可視化する-(著書) 直伝! フローサイトメトリー(実験医学別冊、中内啓光監修・清田純編集、羊土社) 110-121, 2014.

3. 学会発表

1) 渡辺恵理、佐藤奈津子、末廣陽子、崔日承、末廣陽子、鶴池直邦、**渡辺信和**、12 カラー・フローサイトメトリーによる ATL に対する樹状細胞療法後の ATL 細胞と免疫細胞の同時解析、第 76 回日本血液学会、ポスター発表、2014 年 11 月 1 日(大阪国際会議場、大阪)

2) Tomohiro Ishigaki, Seiichiro Kobayashi, Nobuhiro Ohno, Yasunori Ota, **Nobukazu Watanabe**, Arinobu Tojo, Hiromitsu Nakauchi, Kaoru Uchimaruru, Establishment of a stroma-dependent ATL cell-line and analysis of its proliferation in vivo. Oral, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Nov 1, 2014, Osaka.

3) 佐藤奈津子、**渡辺信和**、渡辺恵理、崔日承、鶴池直邦、キメリズム解析・HLA-Flow 法による臍帯血移植後の生着、ATL 細胞、および ATL 細胞の HLA クラス I 欠失の解析、第 1 回日本 HTLV-1 学会、口頭発表、2014 年 8 月 24 日(東京大学医科学研究所、東京)

4) 石垣智寛、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ティング解析と ATL 幹細胞マーカーの検索、第 1 回日本 HTLV-1 学会、口頭発表、2014 年 8 月 24 日（東京大学医科学研究所、東京）

5) 渡辺恵理、佐藤奈津子、**渡辺信和**、末廣陽子、鵜池直邦、ATL に対する樹状細胞療法後の ATL 細胞と免疫細胞のマルチカラー FACS 解析、第 1 回日本 HTLV-1 学会、口頭発表、2014 年 8 月 23 日（東京大学医科学研究所、東京）

6) **渡辺信和**、佐藤奈津子、渡辺恵理、崔日承、鵜池直邦、ATL に対する臍帯血移植後の ATL 細胞と免疫細胞の 12 カラー FACS 解析、第 1 回日本 HTLV-1 学会、口頭発表、2014 年 8 月 23 日（東京大学医科学研究所、東京）

7) 佐藤奈津子、渡辺恵理、石垣智寛、**渡辺信和**、キメリズム解析 / HLA-Flow 法の臨床応用、第 24 回日本サイトメトリー学会、口頭発表、2014 年 6 月 28 日（関西医科大学、枚方市）

8) 渡辺恵理、佐藤奈津子、末廣陽子、鵜池直邦、**渡辺信和**、12 カラー FCM による ATL に対する樹状細胞療法後の ATL 細胞と免疫細胞の同時解析、第 24 回日本サイトメトリー学会、口頭発表、2014 年 6 月 28 日（関西医科大学、枚方市）

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 成人T細胞性白血病に対する同種造血幹細胞移植後の免疫学的再構築の解析

研究分担者 松岡賢市 岡山大学 血液・腫瘍内科 助教

研究要旨：成人 T 細胞性白血病に対する同種造血幹細胞移植では、移植後急性期の免疫管理が GVHD と GVL 双方の観点から非常に重要である。今回の研究では、まだ不明な点の多い移植後急性期の制御性 T 細胞（Regulatory T cells: Treg）の動態について、動物実験および臨床検体解析から探索的な検討をおこなった。移植直後には、移植片に含まれる成熟 Treg が他の T 細胞サブセットに比してより活発な分裂によって増加していることが示され、生着期の免疫安定化装置として機能していることが示唆された。また抗 CCR4 抗体の投与は活性化した Treg を除去し、Treg 再構築は遅延した。これらの結果から、成人 T 細胞性白血病の移植において、Treg と白血病細胞の正確な移植後モニタリングは、安全で効果的な移植を行う上で有用なツールとなることが改めて示された。今後、急性期のモニタリングと、長期的な臨床予後との相関について、臨床研究で詳細に検討する基盤を確立しえたものと考えている。

A. 研究目的

成人 T 細胞性白血病（Adult T-cell leukemia: ATL）の治療において、同種造血幹細胞移植（Hematopoietic Stem Cell Transplantation: HSCT）は不可欠な治療手段である。ATL の移植においては、急性 GVHD と GVL の相関が、他の血液腫瘍に対する移植に比して相対的に高く、移植後急性期の免疫管理が GVHD と GVL 双方の観点から非常に重要である。さらに近年は、抗 CCR4 抗体や移植後シクロフォスファミド投与といった、移植後急性期の免疫再構築に影響を及ぼす治療法が開発されている。このような状況の中、より安

全で効果的な ATL 移植を目指す上で、Treg と ATL 細胞の移植後モニタリングを用いた移植法の確立が求められる。

移植後慢性期の Treg ホメオスタシスについては知見が蓄積されつつあるが、移植後急性期の Treg ホメオスタシスについては、まだ不明な点が多い。今年度の研究では、ATL 移植における Treg/ATL モニタリング法を確立するための基盤となる、移植後急性期における Treg ホメオスタシスの基本的枠組みについて、基礎動物実験および臨床検体の検討から明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. マウス実験

移植後急性期の Treg 回復が、移植片由来の成熟 Treg によるものか、造血幹細胞から分化した Treg によるものかを明らかにするため、マウス実験を行った。ドナー B6 マウスから採取した脾臓細胞 (CD45.1+) と骨髄細胞 (CD45.2+) をレシピエント B6D2F1 マウスに移植し、CD4+CD25+Foxp3+ で定義される Treg 分画中の CD45.1/CD45.2 の割合を経時的に解析した。

2. 臨床検体解析

岡山大学病院で同種造血幹細胞移植を受けた 34 症例について、移植後 2,4,6,8,12 週間の各リンパ球サブセットの回復をマルチカラーフローサイトメトリーにて解析を行った。また ATL 患者で、抗 CCR4 抗体療法を施行した患者について、CCR4 抗体が Treg ホメオスタシスに与える影響を検討した。

(倫理面への配慮)

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C. 研究結果

まず、マウス実験において、移植後急性期の Treg 分画は、移植片に含まれる成熟 Treg 由来であることが明らかになった (Sugiyama et al, BBMT 2014)。移植後急性期の臨床検体で Treg を解析したところ、この時期では CD45RA+CD31+ を呈する胸腺由来細胞はほとんど見られず、一方、リンパ球減少環境における代償的な分裂 (homeostatic proliferation) が、ほかの CD4T 細胞 (Conventional CD4 T cells; Tcon) や CD8T 細胞に比較して、有意に活発であることが明らかになった。こうした強く分裂が駆動された

Treg は、結果的に、CD45RA-CD31-CCR4+ の Effector/Memory 様表現型を呈することが分かった。移植前あるいは移植後急性期に、抗 CCR4 抗体を投与された患者では、CCR4 陽性の Effector/Memory 様分画を呈する Treg が除去されるため、Treg の回復は著しく遅延した。Treg 分画における胸腺新生分画が回復する移植後慢性期に抗 CCR4 抗体を投与した症例では、Effector/Memory 様 Treg の減少が胸腺由来の CD45RA 陽性 Naïve Treg の増加によって代償され、Treg 全体の数は維持された。

D. 考察

ATL に対する移植では、移植後急性期の GVHD/GVL が予後に影響を与えるため、特にこの時期の免疫再構築過程のモニタリングが重要である。これまで、移植後急性期はリンパ球が非常に少数であること、前処置や免疫抑制剤による修飾を強く受けていること、などから、その解析が慢性期検体に比較して困難であると考えられていた。今回の研究では、ドナーソース、前処置法、HLA 一致度などがさまざまな移植症例について、急性期のモニタリングが可能かどうか、探索的な検討を行った。その結果、好中球が生着する移植後 2 週以降では、リンパ球のサブセット解析や、さらに各サブセットを small population に分画する解析も、概ね可能であった。

Treg は、慢性期のホメオスタシス解析の結果から、環境に鋭敏に反応する T 細胞サブセットであることが知られていたが、このことは急性期でも同様に認められた。とりわけ、胸腺由来細胞の出現が極めて限定的である移植後 1 ヶ月の急性期においては、リンパ球減少環境に促進される成熟 Treg の活発な分裂

による増加がみられる一方で、この活発な分裂によって CCR4 を強発現するに至った Treg は抗 CCR4 抗体療法によって除去され、臨床的な GVHD の発症と関連したと考えられた。これらの結果は、急性期における Treg 増加が、生着期の免疫安定化装置として機能していることを示唆すると考えられる。

ATL に対する移植においては、抗 CCR4 抗体や移植後シクロフォスファミド投与といった急性の免疫再構築に影響を与える要因が多いが、今回の探索的検討を踏まえ、安定したモニタリングを施行できる基盤が整ったと考えている。

E . 結論

ATL に対する移植における Treg/ATL モニタリング法を確立するための基盤となる、移植後急性期における Treg ホメオスタシスの基本的枠組みを明らかにすることができた。来年度から、本委託研究で施行する臨床試験からの臨床試験検体を確実に解析し、急性期免疫再構築と臨床的予後の相関について検討したい。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Sugiyama H, Maeda Y, Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Shinagawa K, Tanaka T, Takeuchi K, Teshima T, Tanimoto M. Mammalian target of rapamycin inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit experimental chronic

graft-versus-host disease. Biol Blood Marrow Transplant. 2014;20(2):183-191.

2. Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Tanaka T, Chen L, Azuma M, Yagita H, Tanimoto M. PD-1 pathway in host tissues ameliorates Th17/Th1 mediated experimental chronic graft-versus-host disease. J Immunol. 2014;193(5):2565-73.
3. Fujii N, Nakase K, Asakura S, Matsuo K, Nawa Y, Sunami K, Nishimori H, Matsuoka K, Kondo E, Maeda Y, Shinagawa K, Hara M, Tanimoto M. Bronchiolitis obliterans with allogeneic hematopoietic cell transplantation: a 10-year experience of the Okayama BMT Group. Int J Hematol. 2014 May;99(5):644-51

和文雑誌

1. 松岡賢市: びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫に対する自家造血幹細胞移植後のピジリズマブ投与による PD-1 阻害は抗腫瘍免疫を増強する: 国際第 層試験の結果. がん分子標的治療. 2014;12(1):111-113.
2. 松岡賢市: 【急性リンパ性白血病をめぐる最近の進歩】急性リンパ性白血病に対する CAR 細胞療法の新たな展開. 血液内科. 2014;69(5):652-657
3. 松岡賢市: 【免疫療法の逆襲を現実化した免疫 checkpoint の修飾】リンパ腫治療での PD-1 阻害. 腫瘍内科. 2014;14(5):455-462

4. 松岡賢市: 治療抵抗性 GVHD に対する制御性 T 細胞を用いた新規治療法の開発. 臨床血液 : 2014;55(6):670-81.

和文書籍

1. なし

2. 学会発表

1. 佐伯恭昌, 石川立則, 谷 勝真, 山本宜和, 塩手康弘,松岡賢市, 藤井伸治, 近藤英生, 前田嘉信, 品川克至, 谷本光音. 当科における悪性リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植 79 例について、口頭発表. 第 36 回日本造血細胞移植学会総会. 平成 26 年 3 月 7-9 日
2. 廻 勇輔, 松岡賢市, 浅野 豪, 吉岡尚徳, 泉はるか, 谷本光音. Rapid Assessment of Low-dose IL-2 Administration on Foxp3+ Regulatory T cell Homeostasis、ポスター発表. 第 3 回日本血液学会国際シンポジウム. 平成 26 年 5 月 24 日
3. 吉岡尚徳, 松岡賢市, 廻 勇輔, 浅野 豪, 岸 佑里子, 黒井大雅, 石川立則, 佐伯恭昌, 長谷川詠子, 山本宜和, 谷 勝真, 塩手康弘, 藤井伸治, 近藤英生, 前田嘉信, 増成太郎, 賀川久美子, 中瀬浩一, 谷本光音. Early homeostatic expansion of Tregs after HSCT is susceptible to environmental factors ~ 移植後急性期における制御性 T 細胞の動態とその臨床的意義 ~、口頭発表. 第 76 回日本血液学会学術集会. 平成

26 年 11 月 2 日

4. 廻 勇輔, 松岡賢市, 浅野 豪, 吉岡尚徳, 泉はるか, 谷本光音. 慢性 GVHD に対する低用量 IL-2 療法の効果標準化を目指した迅速評価法の開発. ポスター発表. 第 76 回日本血液学会学術集会. 平成 26 年 10 月 31 日
5. Takanori Yoshioka, Ken-ichi Matsuoka , Yusuke Meguri, Takeru Asano, Taro Masunari, Kumiko Kagawa, Koichi Nakase, Yoshinobu Maeda, Mitsune Tanimoto. Homeostatic Expansion of Regulatory T Cells with the Predominant Effector/Memory Phenotype May Stabilize Immune Recovery in the First Month after HSCT ポスター発表. 第 56 回米国血液学会総会. 平成 26 年 12 月 8 日
6. 廻 勇輔, 松岡賢市, 浅野 豪, 吉岡尚徳, 泉はるか, 岸佑里子, 前田嘉信, 谷本光音. Host immune status determines the effects of therapeutic Interleukin-2 administration: Enhancement of GVL or Induction of Tolerance? ポスター発表. 第 56 回米国血液学会総会. 平成 26 年 12 月 8 日
7. Takeru Asano, Haesook T. Kim, John Koreth, Robert J Soiffer, Yusuke Meguri, Takanori Yoshioka, Hideo Yagita, Mitsune Tanimoto, Jerome Ritz and Ken-ichi Matsuoka. Enhanced

- expression of PD-1 modulates CD4+Foxp3+ regulatory T cell homeostasis during low-dose IL-2 therapy in patients with chronic Graft-versus-Host disease、口頭発表. 第 56 回米国血液学会総会. 平成 26 年 12 月 8 日
8. 松岡賢市. 制御性 T 細胞をめぐるヒトとマウスの「あいだ」、口頭発表. 第 18 回 血液三都物語若手の会
9. 松岡賢市. 低用量インターロイキン-2 療法は慢性移植片対宿主病患者において制御性 T 細胞のホメオスタシスを回復させる、口頭発表. 第 2 回 血液学アカデミー . 平成 26 年 9 月 20 日
10. 松岡賢市. 造血幹細胞移植における制御性 T 細胞の役割、口頭発表. 第 20 回 血液科学セミナー . 平成 26 年 11 月 9 日
11. Hideaki Fujiwara, Yoshinobu Maeda, Yasunaga Sando, Makoto Nakamura, Katsuma Tani, Takanori Ishikawa, Hisakazu Nishimori, Ken-ichi Matsuoka, Nobuharu Fujii, Eisei Kondo, Mitsune Tanimoto. Use of Recombinant Thrombomodulin for Thrombotic Microangiopathy after Hematopoietic Stem Cell Transplantation Ameliorate Disease Severity. ポスター発表. 第 56 回米国血液学会総会. 平成 26 年 12 月 6 日
12. Taiga Kuroi, Sachiyo Okamoto, Kyosuke Saeki, Yujin Kobayashi, Hisakazu Nishimori, Hideaki Fujiwara, Ken-ichi Matsuoka, Nobuharu Fujii, MD, Eisei Kondo, Mitsune Tanimoto and Yoshinobu Maeda. Anti-IL-12/23 p40 Antibody Attenuates Chronic Graft Versus Host Disease Via Suppression of IFN- γ /IL-17-Producing Cells、ポスター発表. 第 56 回米国血液学会総会. 平成 26 年 12 月 6 日
- 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
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 免疫関連蛋白・薬剤代謝関連遺伝子の解析

研究分担者 鬼塚 真仁 東海大学医学部・講師

研究要旨

ドナー検体および患者類粘膜より体細胞 DNA を抽出し、*CYP*、*GST*、*hENT*、*hOCT* や *MDR1* などの薬剤代謝関連遺伝子の遺伝子多型解析を行い、移植後経過に与える影響を解析する。移植後および各免疫担当細胞においてケモカイン、サイトカインなどの機能に関連した分子の解析を行い、GVHD 発症率と再発率を検討する。

A. 研究目的

成人T細胞白血病 (Adult T cell Leukemia; ATL) に対する移植治療成績の向上のために、薬剤代謝関連遺伝子多型解析を行い、遺伝的背景による薬剤の反応性により治療効果に差が生じるかどうかを確認する。遺伝子多型により治療効果に差が確認された場合には、治療前に至適な治療方針を計画することが可能となる。このような、個別化医療をATL診療に当てはめるための基礎的背景を確認することを目的とする。

B. 研究方法

1. ATL の標準化学療法は LSG-15 療法であるといえる。悪性リンパ腫に使用される薬剤が広く使用される治療レジメンである。これまでに、我々は急性骨髄性白血病治療に必須治療薬であるシタラビンの代謝に関係するタンパクに注目し、タンパクをコードする遺伝子の遺伝子

多型解析を行っている。その結果、急性骨髄性白血病の再発率とシタラビンの細胞膜トランスポーターである *SLC29A1* の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) が関連していることを明らかにした。同様にして、LSG-15 治療に用いられる、アドリアマイシン、シクロフォスファミド、オンコピン、ラニムスチン、ビンデシン、カルボプラチンについて、薬剤代謝関連遺伝子多型で既報が存在するものについて、検討した。

2. *CYP2B6* および *ABCB1* について、今回検討した。

3. LSG-15 が投与された ATL 症例については統計学的に十分な症例数が存在しないために、R-CHOP 療法が施行されたびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (Diffuse large cell lymphoma; DLBCL) 55 症例を対象に、全生存率、再発率について評価した。

4. 被験者からは遺伝子多型解析を行うことを文章で説明し、同意書を得ている。

C. 研究結果

現時点で、DLBCLの予後に関連する薬剤代謝関連遺伝子多型は見いだせていない。

D. 考察

今後は、LSG-15に特有の薬剤に関連する遺伝子多型で日本人において対立遺伝子比率の高いものを選択し、まずは、実験系の確立を急ぐ必要がある。さらに、R-CHOPをおこなったDLBCLについても、検討すべき遺伝子を増やし、解析してゆく必要がある。

E. 結論

薬剤代謝関連遺伝子多型は癌化学療法において、結果を左右する重要な因子である可能性がある。ATL治療に関連する薬剤において、このような遺伝子多型を発見することが急務である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Jun Amaki, **Makoto Onizuka**, Ken Ohmachi, Yasuyuki Aoyama, Ryujiro Hara, Akifumi Ichiki, Hidetsugu Kawai, Ai Sato, Mitsuki Miyamoto, Masako Toyosaki, Shinichiro Machida, Minoru Kojima, Yukari Shirasugi, Hiroshi Kawada, Yoshiaki Ogawa and Kiyoshi Ando. Single nucleotide polymorphisms of cytarabine metabolic 1 genes influence clinical outcome in acute myeloid leukemia patients receiving high-dose cytarabine therapy. Int J Hematol 2015, In Press.
2. Yasuo Morishima, Koichi Kashiwase, Keitaro Matsuo, Fumihiro Azuma, Satoko Morishima, **Makoto Onizuka**, Toshio Yabe, Makoto Murata, Noriko Doki, Tetsuya Eto, Takehiko Mori, Koichi Miyamura, Hiroshi Sao, Tatsuo Ichinohe, Hiroo Saji, Shunichi Kato, Yoshiko Atsuta, Keisei Kawa, Yoshihisa Koda, and Takehiko Sasazuki, for the Japan Marrow Donor Program.

Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation Blood. 2015;125(7):1189-1197

3. Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H, Kato T, Yamamoto E, Suzuki K, Chen F, Asou N, Ohtake S, Miyawaki S, Miyazaki Y, Sakura T, Ozawa Y, Usui N, Kanamori H, Kiguchi T, Imai K, Uike N, Kimura F, Kitamura K, Nakaseko C, **Onizuka M**, Takeshita A, Ishida F, Suzushima H, Kato Y, Miwa H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Naoe T. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. Leukemia 28(8), 1586-1595, 2014

2. 学会発表

1. 重成敦子、**鬼塚真仁**、尾崎有紀、鈴木進悟、猪子英俊、安藤潔、椎名隆. LOH が疑われる再生不良性貧血患者の SS-SBT 法による DNA タイピングと LOH の検出. 第 23 回日本組織適合性学会大会. 2014

H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名：ATL に対する移植後エンドキサン大量療法を用いた血縁 HLA 半合致同種造血細胞移植法の開発

研究分担者 中前博久 大阪市立大学大学院医学研究科 / 血液腫瘍制御学 准教授

研究要旨：成人T細胞白血病/リンパ腫(adult T-cell leukemia/lymphoma, ATLL)は極めて予後不良の難治性血液悪性疾患である。現在でも、同種造血細胞移植が有力な根治療法に位置付けられているが、ATLLの発症年齢の中央値は約60歳で、HLAが合致したとしても血縁同胞からの移植は、年齢や合併症の問題で困難な場合が多い。また、骨髄バンクでのドナーコーディネートは、病勢の進行により、同種移植の好機を逃す症例も少なくない。近年、移植後の大量エンドキサン療法を用いることで、血縁HLA半合致ドナーより安全に同種造血細胞移植が行えることが報告されている。血縁HLA半合致ドナーは、約90%の患者でドナーの確保が可能であり、迅速に移植が行えるのみならず、ドナーリンパ球輸注を含めた養子免疫療法の発展も期待され、骨髄バンクのドナーコーディネートに比べてかかる経費も少ない。今後、ATLLに対しての血縁HLA半合致同種造血幹細胞移植の安全性、有効性の検討を行う価値が十分あると考えられる。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病/リンパ腫(adult T-cell leukemia/lymphoma, ATLL)は、主に母乳を通じて母子感染するヒトレトロウイルスである、human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) 感染を契機として発症する。ATLL は臨床的には、急性型、リンパ腫型、慢性型、くすぶり型に分けられ、とりわけ急性型、リンパ腫型はさまざまな多剤併用療法が試みられてきたが、いったん寛解に到達した症例でもその多くは再発し、通常化学療法では完治の見込みは未だ極めて

低い状況である。これまで報告された多剤併用化学療法で最も良好な成績を残している LSG-15 でも 2 年生存率 31%、6 年生存率 16% 程度と決して満足のいく成績ではない。

このような難治性の ATLL や治療抵抗性の悪性リンパ腫に対して同種造血幹細胞移植を施行し、明らかに移植されたドナーの免疫担当細胞による、GVATLL (graft-versus-ATLL) 効果と呼ばれる同種免疫反応が見られる症例や、長期無病生存例が報告がされている。しかしながら、血縁で HLA 血清型抗原適合のドナーが見つかる

可能性は多く見積もっても 3 割程度に過ぎず、患者の多くは骨髄バンクを通じてドナーのコーディネートを行うことになる。骨髄バンクのドナーのコーディネートには中央値で約5か月を要しているため、特に ATL のような急速な病状進行を認める症例では同種移植の好機を逸する症例も少なくない。

近年、造血器悪性疾患患者に対する同種造血幹細胞移植において造血幹細胞の代替造血幹細胞源として、世界的に血縁 HLA 半合致ドナーや非血縁臍帯血での移植が試みられている。一方で、血縁 HLA 半合致ドナーからの移植では移植片の拒絶率が高いことや graft-versus-host disease (GVHD) の発症率が高いことが懸念されてきた。しかしながら、近年の tacrolimus (FK506) や mycophenolate mofetil (MMF) をはじめとする免疫抑制剤の目覚ましい発展や、抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン(ATG)や移植後エンドキサン大量療法などによる有効な T 細胞除去法の確立により、移植片の生着率改善や GVHD のコントロールが良好に行えることが示されている。本研究では適切な血縁者ドナーを有しない ATLL や難治性の中・高悪性度悪性リンパ腫の患者において、移植後のエンドキサン大量療法を用いた HLA 半合致の血縁ドナーより同種末梢血幹細胞移植を行い、その安全性や疾患に対する有効性を検討する。

B. 研究方法

試験デザイン

単施設第 II 相臨床試験

評価項目及びその基準

主評価項目(primary endpoint)

移植片の生着率

副評価項目(secondary endpoint)

1 年全生存率

1 年無病生存率

移植関連死亡率

GVHD の重症度、頻度

移植関連合併症の頻度、重症度

患者適格基準

- 1) 血清型による HLA 抗原適合または 1 抗原不一致の HLA 適合の血縁ドナーがいない ATLL または治療抵抗性の悪性リンパ腫の患者
- 2) HLA ハプロ一致の同胞・家族または血縁ドナーを有する患者
- 3) 年齢は 15 歳以上 70 歳未満
- 4) Performance status 0 または 1
- 5) 主要臓器機能が保たれている
下記の a から e のすべてを満たす
 - a. 総ビリルビン値 2.0 mg/dl 未満
 - b. 血清クレアチニン値 2.0 mg/dl 未満
 - c. 左室駆出率 50%以上
 - d. %VC が 40%以上、FEV1.0% 50%以上、または酸素非投与下で SaO₂ 90% 以上
 - e. AST かつ ALT 値が基準値上限の 3 倍未満
- 6) 試験参加について同意が得られている患者
- 7) 適応疾患
 - a. ATLL
急性型、リンパ腫型の ATLL の患者で PR 以上の症例
 - b. 悪性リンパ腫
WHO 分類 (2008) に分類されている悪性リンパ腫で自家移植後再発または化学療法の感受性を有しないため自家移植の適応外症例、あるいは病勢が強く通常化学療法で疾患のコントロール不良の症例

移植方法の概略

移植前処置: リン酸フルダラビン (15 mg/m² × 2 回/日を 2 日間と 30 mg/m² × 1 回/日を 4 日間)、シタラビン (2 g/m² × 2 回/日を 2 日間)、メルファラン (100 mg/m² を 1 日間) を用いる。エンドキサンは移植後 day 3, 4 に 25 mg/kg、計 50 mg/kg 投与する。移植ソースは全例で G-CSF で採取した末梢血幹細胞を用いる。急性 GVHD 予防については、免疫抑制剤はタクロリムス (0.03 mg/kg/day) と MMF 3 g/day (1,000 mg × 3 回/日で開始) を移植後 5 日目より開始する。

研究予定期間

登録期間:平成 21 年 10 月 1 日から平成 28 年 9 月 30 日

追跡期間:平成 21 年 10 月 1 日から平成 29 年 9 月 30 日

総研究期間:8 年

研究予定症例数とその設定根拠

本試験による初回 HLA 半合致移植として計 17 例を予定登録症例数とする。

設定根拠:移植後生着を対象として期待成功率と閾値成功率をそれぞれ 100%と 85%としてエラー(片側 0.05)、パワー 0.8 で必要症例数を設定すると 14 例になる。20%の中止や脱落を見込んで目標症例数を設定して初回 HLA 半合致移植数 17 例(最大登録可能症例数 22 例)と設定した。登録期間 7 年、追跡期間 1 年、総研究期間 8 年とする。

(倫理面への配慮)

1. 研究の安全性に対する配慮の方法

試験担当医師は有害事象が発生した場合は、患者のリスクを最小限に抑えるために速やかに診断し、適切な処置を行うよう努める。試験担当医師は緊急時の報告方法に該当する重篤な有害事象を認めた場合は速やかに試験責任医師に緊急報告を行う。また、薬剤に関する重篤な有害事象については試験責任医師のみならず、当該医薬品製造メーカーに FAX、TEL などにより連絡も行う。これらの場合、試験責任医師は試験継続について試験審査委員会を速やかに開催して試験継続の是非の判断を行う。

2. 被験者に説明し同意を得る書類

本臨床研究の開始に際して、担当医は対象となる患者に対して別添の同意説明文を参考に、研究の重要性、被験者の研究への参加が研究実施に当たり必要不可欠な理由を十分説明した上で、本研究への参加について患者本人の自由意志による同意を文章で得るものとする。

試験参加に同意が得られた場合は同意書に自署による署名を得る。ただし、自署が不可能な場合に限り代諾者による同意も可能とする。同意説明文は移植委員会の指示により必要な場合は改変する。

3. 研究対象となる個人の人権の擁護方法

本研究は、ヘルシンキ宣言(世界医師会)の精神および臨床研究に関する倫理指針(厚生労働省)を遵守し、患者に対し、本治療法を含め、現在可能な治療法について、その有効性、副作用を説明し、十分理解が得られたことを確認した後、患者の自由意志により選択し、その選択の結果にかかわらず、選択された治療法に最善を尽くす。患者は、本研究への参加同意をいつでも撤回できる。また、患者の選択の結果によって患者は不利益を得ない。また、ドナーに対しても、本治療に伴う危険性、副作用および有効性を説明し、ドナーの自由意志により決定する。患者の治療に対しては、ドナーの決定の結果にかかわらず、最善を尽くす。本研究で知り得た情報は、個人が同定できる形ではいかなる状況においても公表せず、かつ厳重な管理下で保管される。また、本人が希望すれば、本人の情報は本人にのみ文書にて報告する。

C. 研究結果

平成 27 年 2 月 23 日時点での登録数は、計 6 例(ATLL2 例、悪性リンパ腫 4 例)である。

D. 考察

ATLL は極めて難治性の血液悪性疾患であり、根治には同種造血細胞移植が今日でも最も有力な手段であり、迅速な移植が予後を改善する可能性が議論され始めている。しかしながら、特に ATLL の high-risk group の予後は不良で、生存の中央値は 5 ヶ月弱と報告されており、病勢の悪化で同種造血幹細胞移植にたどり着けない症例も多いと考えられる。

また、ATLL の発症の中央値年齢は約 60 歳で、HLA が合致したとしても患者同胞からの移植は、年齢や合併症の問題で困難が多いことが予想される。

一方、代替ドナーソースの一つである非血縁臍帯血は、近年、ATLL の成績が芳しくないことが本邦から報告されている。

このような背景から、ことに ATLL では、血縁 HLA 半合致ドナーソースの拡大が期待される。血縁 HLA 半合致移植は、多くの症例でドナーが確保でき、迅速な移植が可能のみならず、ドナーリンパ球輸注を含めた養子免疫療法も可能であり、非血縁骨髄バンクでのコーディネートに比べて経費もかからない。今後、ATLL に対しての血縁 HLA 半合致同種造血移植が安全に行え、有効性があるかの検討を行う価値は高いと考える。

3. その他
なし

E. 結論

血縁 HLA 半合致移植は、とくに ATLL のように予後不良の疾患に対する同種造血細胞移植の代替幹細胞ソースとしての発展が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 ATLに対する同種造血幹細胞移植の生存に及ぼすEBMTリスクスコアと
sIL-2Rの意義

研究分担者 宇都宮 與 今村病院分院 院長

研究要旨：同種造血幹細胞移植を受けたATL患者の移植前予後因子を明らかにするため当院で同種移植を受けたATL患者を後方視的に解析した。1998年6月から2013年5月までに臍帯血以外の同種造血幹細胞移植を受けたATL患者70名（男性40名、女性30名、年齢中央値52歳）を対象とした。患者背景と移植成果を解析し、予後因子を抽出した。単変量解析で、PS 2以上、HCT-CI 3以上、EBMTリスクスコア5ポイント以上、HLAミスマッチ移植、sIL-2R値10,000 U/mL以上、リンパ球数10,000/μl以上、ヘモグロビン9 g/dL未満が予後不良因子であった。多変量解析では、EBMTリスクスコア5ポイント以上とsIL-2R値10,000 U/mL以上が有意な予後不良因子であった。同種造血幹細胞移植を受けたATL患者の予後因子としてEBMTリスクスコアが重要であり、sIL-2R値と組み合わせるとさらに有用である。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者の移植前予後因子を明らかにする目的で当院で同種移植を受けた ATL 患者を後方視的に解析した。

B. 研究方法

1998年6月から2013年5月までに当院で同種造血幹細胞移植を受けた70名について移植患者の臨床的背景と移植成績について解析した。臍帯血移植患者は除いた。患者背景として移植時年齢、性別、臨床病型、一般状態、寛解状態、移植細胞源、レシピエントとドナーの関係、HLAの一致度、ドナーのHTLV-1抗体、診断から移植までの期間、前処置の強度、HCT-CI (hematopoietic cell transplant comorbidity index)、EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) リスクスコア、最終生存確認日、死亡日と死因、生着の有無、急性および慢性GVHDの

出現と程度、前処置直前の血液および生化学検査値(リンパ球数、ヘモグロビン値、血小板数、可溶性インターロイキン-2レセプター(sIL-2R)値、LDH値、尿素窒素、補正カルシウム値)などについて検討した。

(倫理面への配慮)

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C. 研究結果

男性40名、女性30名、年齢中央値は52歳(32-65歳に分布)、骨髄移植50名、末梢造血幹細胞移植20名であった。急性型63名、リンパ腫型7名、一般状態(performance status: PS)0が16名、1が42名、2が12名であった、移植時の寛解状態は完全寛解29名、部分寛解10名、不変5名、増悪26名であった。36名が非血縁ドナーからの移植で、5名が血縁ドナーからの移植であっ

た。血縁ドナーのうち 3 名が HTLV-1 抗体陽性であった。50 名が骨髄破壊的移植、20 名が骨髄非破壊的移植を受けた。移植後観察期間中央値が 285 日で、1 年全生存率 49.6%、3 年全生存率 35.2%であった。

単変量解析では、PS 2 以上、HCT-CI 3 以上、EBMT リスクスコア 5 ポイント以上、HLA ミスマッチ移植、sIL-2R 値 10,000 U/mL 以上、リンパ球数 10,000/ μ l 以上、ヘモグロビン 9 g/dL 未満が予後不良因子であった。多変量解析では、EBMT リスクスコア 5 ポイント以上と sIL-2R 値 10,000 U/mL 以上が有意な予後不良因子であった。EBMT リスクスコアと sIL-2R 値を組み合わせると予後が 3 群に層別化された。

D. 考察

同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者の移植前予後因子を明らかにする目的で当院での ATL 移植施行例 70 名について解析した。その結果、PS 2 以上、HCT-CI 3 以上、EBMT リスクスコア 5 ポイント以上、HLA ミスマッチ移植、sIL-2R 値 10,000 U/mL 以上、リンパ球数 10,000/ μ l 以上、ヘモグロビン 9 g/dL 未満が予後不良因子であった。以前より ATL 患者の同種移植のリスク因子としては高齢、男性、移植時非完全寛解例、臍帯血移植や一般状態不良、非血縁移植、sIL-2R 値の上昇などが報告されている。当院での検討では、年齢と男性が予後不良因子として抽出されなかったが、その他の因子は同様にリスク因子として抽出された。年齢については ATL 患者が、高齢発症であり若年者との比較が十分できないことが理由として考えられる。多変量解析では、EBMT スコア 5 ポイント以上と sIL-2R 値

10,000 U/mL 以上が有意な予後不良因子として抽出され、これらの組み合わせはより正確な移植適応の判断材料になるものと考えられる。

E. 結論

同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者の予後因子として EBMT リスクスコアが重要であり、sIL-2R 値と組み合わせるとさらに有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Tokunaga M, Uto H, Oda K, Tokunaga M, Mawatari S, Kumagai K, Haraguchi K, Oketani M, Ido A, Ohnou N, Utsunomiya A, Tsubouchi H. Influence of human T-lymphotropic virus type 1 coinfection on the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol*, 2014, 49(12):1567-77.
2. Xia H, Yamada S, Aoyama M, Sato F, Masaki A, Ge Y, Ri M, Ishida T, Ueda R, Utsunomiya A, Asai K, Inagaki H. Prognostic impact of microRNA-145 down-regulation in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Hum Pathol*, 2014, 45(6):1192-8.
3. 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 prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma (JCOG0902A). *Br J Haematol*, 2014, 166(5):739-48.
4. Araya N, Sato T, Ando H, Tomaru U, Yoshida M, Coler-Reilly A, Yagishita N, Yamauchi J, Hasegawa A, Kannagi M, Hasegawa Y, Takahashi T, Kunitomo Y, Tanaka Y, Nakajima T, Nishioka K, Utsunomiya A, Jacobson S, Yamano Y. HTLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. *J Clin Invest*, 2014, 124(8):3431-42.
 5. Takahashi R, Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Yamochi T, Fujikawa D, Nakashima M, Tanaka Y, Uchimarui K, Utsunomiya A, Watanabe T. Epigenetic deregulation of EVC confers robust Hedgehog signaling in adult T-cell leukemia. *Cancer Sci*, 2014, 105(9):1160-9.
 6. Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma with cord blood transplantation: a Japanese nationwide retrospective survey. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(12):1968-74.
 7. Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. High incidence of CMV infection in adult T-cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2014, 49(12):1548-9.
 8. 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*, 2014, 74(21):6129-38.
 9. Takekiyo T, Dozono K, Mitsuishi T, Murayama Y, Maeda A, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. Effect of exercise therapy on muscle mass and physical functioning in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Support Care Cancer*, 2014 [Epub ahead of print]
 10. Yamauchi J, Coler-Reilly A, Sato T, Araya N, Yagishita N, Ando H, Kunitomo Y, Takahashi K, Tanaka Y, Shibagaki Y, Nishioka K, Nakajima T, Hasegawa Y,

- Utsunomiya A, Kimura K, Yamano Y. Mogamulizumab, an anti-CCR4 antibody, targets human T-lymphotropic virus type 1-infected CD8+ and CD4+ T cells to treat associated myelopathy. *J Infect Dis*, 2015, 211(2):238-48.
11. Kinpara S, Ito S, Takahata T, Saitoh Y, Hasegawa A, Kijiyama M, Utsunomiya A, Masuda M, Miyazaki Y, Matsuoka M, Nakamura M, Yamaoka S, Masuda T, Kannagi M. Involvement of double-stranded RNA-dependent protein kinase and anti-sense viral RNA in the constitutive NFκB activation in adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Leukemia*, 2015 [Epub ahead of print]
12. Utsunomiya A, Choi I, Chihara D, Seto M. Recent advances in treatment of adult T-cell leukemia- lymphomas. *Cancer Sci*, 2015 [Epub ahead of print]
13. Suehiro Y, Hasegawa A, Iino T, Sasada A, Watanabe N, Matsuoka M, Takamori A, Tanosaki R, Utsunomiya A, Choi I, Fukuda T, Miura O, Takaishi S, Teshima T, Akashi K, Kannagi M, Uike N, Okamura J. Clinical outcomes of a novel therapeutic vaccine with Tax peptide-pulsed dendritic cells for adult T cell leukaemia/lymphoma in a pilot study. *Br J Haematol*, 2015 [Epub ahead of print]

和文雑誌

1. 宇都宮與、崔日承、鵜池直邦:ATL

に対する同種造血幹細胞移植と細胞療法に関する研究の現状. *血液内科*, 2014, 68(1):51-7.

2. 宇都宮與:オンコロジーエマージェンシーとしての代謝異常—特に,高カルシウム血症と低ナトリウム血症について—. *癌の臨床*, 2014, 60(1):1-8.

和文書籍

1. 宇都宮與:成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL). *白血病と言われたら - 発症間もない患者さんご家族のために - 疾患・治療編*. p131-139, 特定非営利法人全国骨髄バンク推進連絡協議会(東京), 2014.
2. 宇都宮與:[. *リンパ系腫瘍 F. 成人 T 細胞白血病/ リンパ腫(ATL)] ATLの治療方針 . EBM 血液疾患の治療 2015-2016 (金倉譲・木崎昌弘・鈴木律朗・神田善伸編集), pp 309 -313, (株)中外医学社(東京), 2014.*

2. 学会発表

1. Tokunaga M, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Prognostic significance of EBMT score and serum soluble IL-2R level on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma. 40th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, Milan, Italy, 30 March - 2 April, 2014. (Poster)
2. Takeuchi S, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Takatsuka

- Y, Utsunomiya A: EBMT score only predicts day 100 overall survival and overall survival after allogeneic stem cell transplantation in adult T-cell leukemia/lymphoma patients. 40th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, Milan, Italy, 30 March - 2 April, 2014. (Poster)
3. Nakano N, Kubota, Tokunaga M, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Efficacy and feasibility of umbilical cord blood transplantation with myeloablative non-TBI conditioning regimen using Flu180/ivBU12.8/Mel80 for adult patients with advanced hematological diseases. 40th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, Milan, Italy, 30 March - 2 April, 2014. (Poster)
 4. 佐藤妃映、岡剛史、神農陽子、鷲尾佳奈、村上一郎、大内田守、宇都宮與、高橋聖之、吉野正：成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATL) 細胞株における特異的 DNA メチル化の解析，第 103 回日本病理学会，広島，2014 年 4 月 24 日～26 日。(ポスター)
 5. Choi I, Eto T, Tanosaki R, Shimokawa M, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Takemoto S, Taguchi J, Fukushima T, Kato K, Teshima T, Nakamae H, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N: Unrelated bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning regimen for elderly patients with adult T-cell leukemia/lymphoma, feasibility study with twoyear follow up data. 19th Congress of the European Hematology Association, Milan, Italy, 12-15 June, 2014.(Poster)
 6. 正木彩子、石田高司、前田康博、稲垣淳、鈴木進、伊藤旭、成田朋子、榊原健夫、滝野寿、李政樹、楠本茂、小松弘和、上田龍三、稲垣宏、宇都宮與、飯田真介：成人 T 細胞性白血病 / リンパ腫における indoleamine 2, 3-dioxygenase の臨床的意義 . 第 54 回リンパ網内系学会総会，山形，2014 年 6 月 19 日～21 日。(口演)
 7. 佐藤妃映、岡剛史、神農陽子、鷲尾佳奈、村上一郎、大内田守、宇都宮與、高橋聖之、吉野正：成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATL) 関連細胞株における特異的 DNA メチル化の解析 . 第 54 回リンパ網内系学会総会，2014 年 6 月 19 日～21 日。(ポスター)
 8. Utsunomiya A : Possible proposal of an extranodal primary gastric variant of lymphoma type ATL / リンパ腫型 ATL における節外性胃原発亜型の提案 . 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会(ワークショップ Progress in basic research and treatment for ATL / ATL 基礎と治療の進歩)，福岡，2014 年 7 月 17 日～19 日。(口演)
 9. 米倉健太郎、川上延代、神崎保、徳永雅仁、高塚祥芝、宇都宮與：モガムリズムマブによる治療後にTENを発症した急性型 ATL の 1 例 . 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 福岡，

- 2014年7月17日~19日.(ポスター)
10. 勝屋弘雄、石塚賢治、天野正宏、河井一浩、日野亮介、宇都宮與、花田修一、山中竹春、鈴宮淳司、田村和夫：本邦における慢性・くすぶり型 ATL の後方視的解析．第12回日本臨床腫瘍学会学術集会，福岡，2014年7月17日~19日.(口演)
 11. Yoshida N, Karube K, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Imaizumi Y, Taira N, Uike N, Umino A, Arita K, Suguro M, Tsuzuki S, Kinoshita T, Nakamura S, Ohshima K, Seto M: Molecular Characterization of Chronic-Type Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma: Discovery of Molecular Biomarkers for Acute Transformation 2014. American Society of Hematology Meeting on Lymphoma Biology, Colorado Springs, CO, USA, 10-13 August, 2014. (Poster)
 12. 中野伸亮、糸山貴浩、窪田歩、徳永雅仁、徳永真弓、牧野虎彦、竹内昇吾、高塚祥芝、宇都宮與：染色体異常が成人 T 細胞白血病/リンパ腫に対する同種移植の成績に及ぼす影響．第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(口演)
 13. 徳永雅仁、吉田稚明、中野伸亮、窪田歩、徳永真弓、糸山貴浩、牧野虎彦、竹内昇吾、高塚祥芝、瀬戸加大、宇都宮與：ALK 陰性未分化大細胞リンパ腫 (ALCL) の治療後に慢性型成人 T 細胞性白血病 (ATL) を発症した症例.第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(ポスター)
 14. 米倉健太郎、徳永雅仁、川上延代、武田浩一郎、神崎保、高塚祥芝、中野伸亮、窪田歩、竹内昇吾、宇都宮與：ATL 患者に対するモガムリズマブ投与後の皮膚障害の検討．第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(口演)
 15. 吉森みゆき、西垂水和隆、登美奈子、室屋朗子、高塚祥芝、宇都宮與：当院における HTLV-1 感染者の針刺し皮膚粘膜曝露後のフォローアップ．第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(ポスター)
 16. 新谷奈津美、佐藤知雄、安藤仁、外丸詩野、Ariella Coler-Reilly、八木下尚子、山内淳司、長谷川温彦、神奈木真理、田中勇悦、宇都宮與、山野嘉久：HTLV-1 による Th-like CD4+CCR4+T 細胞の発生機構の解析．第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(口演)
 17. 中武彩子、小林行治、中畑新吾、西片一朗、岩永正子、相良康子、北中明、天野正宏、前田宏一、末岡榮三朗、瀬戸山充、岡山昭彦、宇都宮與、下田和哉、渡邊俊樹、森下和広：血中可溶性 CADM1/TS1C1 測定による ATL 診断法の開発．第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(口演)
 18. 金原秀一、齊藤愛記、長谷川温彦、宇都宮與、増田昌人、宮崎泰司、松岡雅雄、中村正孝、山岡昇司、増田貴夫、神奈木真理：ATL 細胞内 NF- κ B 経路活性化に対する PKR 分子と HTLV-1 LTR 領域由来転写産物の寄与．第1回日本 HTLV-1 学会学術集会，東京，2014年8月

- 22日~24日.(口演)
19. 山内淳司、新谷奈津美、安藤仁、國友康夫、高橋克典、Ariella Coler-Reilly、八木下尚子、佐藤知雄、宇都宮與、山野嘉久：HAMにおける抗CCR4抗体療法の有用性およびCCR4+CD8+T細胞の異常に関する検討.第1回日本HTLV-1学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(口演)
 20. 石原誠人、新谷奈津美、佐藤知雄、藤井理沙、最知直美、宇都宮與、山野嘉久、菅野純夫、植田幸嗣：CD4陽性T細胞を用いた膜プロテオーム解析によるHTLV-1関連脊髄症に対する新規治療標的分子の探索.第1回日本HTLV-1学会学術集会，東京2014年8月22日~24日.(口演)
 21. 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年8月22日~24日.(口演)
 22. 佐藤妃映、岡剛史、神農陽子、鷺尾佳奈、村上一郎、大内田守、宇都宮與、高橋聖之、吉野正：成人T細胞白血病/リンパ腫(ATL)関連細胞株におけるDNA異常メチル化の解析.第1回日本HTLV-1学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(ポスター)
 23. 岡剛史、阪田真澄、水野初、宇都宮與、藤田洋史、升島努、吉野正：成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)発症・進展に於ける代謝異常に関するメタボローム解析.第1回日本HTLV-1学会学術集会，東京，2014年8月22日~24日.(ポスター)
 24. Kinpara S, Saitoh Y, Hasegawa A, Utsunomiya A, Masuda M, Miyazaki Y, Matsuoka M, Nakamura M, Yamaoka S, Masuda T, Kannagi M: Involvement of PKR and anti-sense HTLV-1 transcripts in the constitutive NF- κ B activation in ATL cells. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Oral)
 25. Yamochi T, Morita Y, Yamochi T, Firouzi S, Sasaki Y, Watanabe N, Uchimaru K, Utsunomiya A, Watanabe T: Characterization of putative ATL tumor initiating cells. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Poster)
 26. Ishigaki T, Kobayashi S, Nakano N, Utsunomiya A, Uchimaru K, Tojo A: Comprehensive analysis of surface antigens on acute-type ATL cells and search for ATL-initiating cell markers. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Poster)
 27. Ishihara M, Araya N, Sato T, Utsunomiya A, Yamano Y, Sugano S, Ueda K: Comprehensive membrane-proteome analysis for discovery of novel therapeutic targets against adult T-cell leukemia. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Oral)

28. Ito S, Okano Y, Izumida W, Shimoyama T, Sugawara T, Takatsuka Y, Takeuchi S, Fujisawa Y, Tsukushi Y, Shimosegawa K, Ikuta K, Oyake T, Murai K, Kakinoki Y, Utsunomiya A, Ishida Y: Phase 2 study of dose-adjustment of lenalidomide and dexamethasone in unfit myeloma patients. 第76回日本血液学会学術集会,大阪,平成26年10月31日~11月2日.(口演)
29. Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: UCBT with myeloablative non-TBI regimen using Flu/Bu/Mel for advanced hematological diseases. 第76回日本血液学会学術集会,大阪,平成26年10月31日~11月2日.(口演)
30. Yamagishi M, Takahashi R, Sakai N, Fujikawa D, Nakagawa S, Yamochi T, Yamochi T, Nakano K, Uchimaru K, Utsunomiya A: 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,平成26年10月31日~11月2日.(口演)
31. Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Yamano Y, Sugano S, Ueda S: Membrane proteome analysis to discover therapeutic targets for HTLV-I associated diseases. 第76回日本血液学会学術集会,大阪,平成26年10月31日~11月2日.(口演)
32. Nosaka 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 survey 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,平成26年10月31日~11月2日.(口演)
33. Tokunaga M, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Prognostic significance of EBMT score and sIL-2R on outcomes after allo-HSCT for ATL. 第76回日本血液学会学術集会,大阪,平成26年10月31日~11月2日.(ポスター)
34. 竹内昇吾、中野伸亮、窪田歩、徳永雅仁、徳永真弓、糸山貴浩、牧野虎彦、高塚祥芝、宇都宮與: 成人 T 細胞性白血病/リンパ腫に対する高齢者移植の検討. 第76回日本血液学会学術集会,大阪,平成26年10月31日~11月2日.(ポスター)
35. Tokunaga M, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Recent significance of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T cell leukemia/lymphoma (ATL). 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA, 6-9 December, 2014.(Poster)

36. Tanosaki R, Choi I, Shimokawa M, Utsunomiya A, Tokunaga M, Nakano N, Fukuda T, Nakamae H, Takemoto S, Kusumoto S, Tomoyose T, Sueoka E, Shiratsuchi M, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using reduced-intensity conditioning regimen with fludarabine and busulfan from HLA-matched related donor for elderly adult T-Cell leukemia/lymphoma: results of multicenter phase II study (ATL-NST-3). 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA, 6-9 December, 2014.(Poster)
37. Ishigaki T, Kobayashi S, Ohno N, Nakano N, Utsunomiya A, Yamazaki S, Watanabe N, Uchimarui K, Tojo A, Nakauchi H : Comprehensive analysis of surface antigens on adult t-cell leukemia/lymphoma (ATL) cells and search for ATL-initiating cell markers. 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA, 6-9 December, 2014.(Poster)
38. Nakano N, Itoyama T, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Tokunaga M, Makino T, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Impact of chromosomal abnormalities in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with adult T-cell leukemia/lymphoma. 2015 BMT Tandem Meeting. San Diego, CA, USA, February 11-15, 2015. (Oral)
39. Yoshimitsu M, Tanosaki R, Kato K, Ishida T, Choi I, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Uchida N, Moriuchi Y, Nagamura-Inoue T, Mori S, Sakamaki H, Atsuta Y, Utsunomiya A: Risk stratification of outcomes among patients with adult T-cell leukemia/lymphoma receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation: a retrospective analysis of the JSHCT ATL working group. 2015 BMT Tandem Meeting. San Diego, CA, USA, February 11-15, 2015.(Oral)
- 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
38. Nakano N, Itoyama T, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Tokunaga M, Makino T, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Impact of chromosomal abnormalities in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with adult

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 成人T細胞性白血病に対する同種造血幹細胞移植後の予後予測に関する研究

研究分担者 豊嶋崇徳（北海道大学医学研究科血液内科・教授）

研究要旨:同種造血幹細胞移植療法は成人T細胞性白血病に対する根治的治療法として確立されつつある。本研究では、移植成績の予後予測に関して北海道地区で移植を受けた46例について検討した。5年生存率は46%と良好な成績であったが、移植時sIL-2R高値の例では再発が高頻度であり、移植成績不良を予測する因子であることが明らかになった。

A. 研究目的

ATL に対する同種造血幹細胞移植の予後予測を可能とする因子を明らかにする。

高値、移植時非寛解であった。特に非寛解例は再発率が高いが、sIL-2R 高値例が予後不良であった。

B. 研究方法

2000年から2012年までに北海道地区で同種造血幹細胞移植を受けた46例について移植患者の臨床的背景と移植成績について解析した。

（倫理面への配慮）

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

D. 考察

同種造血幹細胞移植はATLの根治的治療であることが明らかになった。非寛解例では再発率が高く移植成績が不良であることが知られており、本研究でも確認されたが、さらに移植時sIL-2R値によって移植成績が予測されることが明らかになった。移植のタイミングの臨床決断に有益な情報と考えられる。

C. 研究結果

年齢中央値は57歳、疾患は急性型50%、リンパ腫型46%であった。移植時は41%が寛解で59%が非寛解であった。1年生存率は55%、5年生存率は46%で治癒が期待される成績であった。予後不良因子は、男性、移植時sIL-2R

E. 結論

ATL に対する同種造血幹細胞移植の予後予測因子として移植時sIL-2R値が同定された。

F. 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Nakasone H, Fukuda T, Kanda J, Mori T, Yano S, Kobayashi T, Miyamura K, Eto T, Kanamori H, Iwato K, Uchida N, Mori S, Nagamura-Inoue T, Ichinohe T, Atsuta Y, **Teshima T**, Murata M :
Impact of conditioning intensity and TBI on acute GVHD after hematopoietic cell transplantation.
Bone Marrow Transplant. 2014 Dec 22. [Epub ahead of print]
2. Koyama M, Hashimoto D, Nagafuji K, Eto T, Ohno Y, Aoyama K, Iwasaki H, Miyamoto T, Hill GR, Akashi K, **Teshima T**: Expansion of donor-reactive host T cells in primary graft failure after allogeneic hematopoietic SCT following reduced-intensity conditioning.
Bone Marrow Transplant
2014,49(1):110-115
3. Sugiyama H, Maeda Y, Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka KI, Fujii N, Kondo E, Shinagawa K, Tanaka T, Takeuchi K, **Teshima T**, Tanimoto M: Mammalian target of rapamycin inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit experimental chronic graft-versus-host disease.
Biol Blood Marrow Transplant
2014,20(2):183-191
4. Shono Y, Shiratori S, Kosugi-Kanaya M, Ueha S, Sugita J, Shigematsu A, Kondo T, Hashimoto D, Fujimoto K, Endo T, Nishio M, Hashino S, Matsuno Y, Matsushima K, Tanaka J, Imamura M, **Teshima T**: Bone marrow graft-versus-host disease: evaluation of its clinical impact on disrupted hematopoiesis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.
Biol Blood Marrow Transplant
2014,20(4):495-500
5. Shiratori S, Wakasa K, Okada K, Sugita J, Akizawa K, Shigematsu A, Hashimoto D, Fujimoto K, Endo T, Kondo T, Shimizu C, Hashino S, **Teshima T**: Stenotrophomonas maltophilia infection during allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-center experience.
Clin Transplant 2014,28(6):656-661
6. Shigematsu A, Kobayashi N, Yasui H, Shindo M, Kakinoki Y, Koda K, Iyama S, Kuroda H, Tsutsumi Y, Imamura M, **Teshima T**: High level of serum soluble interleukin-2 Receptor at Transplantation Predicts Poor Outcome of Allogeneic Stem Cell Transplantation for Adult T Cell Leukemia.
Biol Blood Marrow Transplant
2014,20(6):801-805
7. Iwasaki J, Kondo T, Darmanin S, Ibata M, Onozawa M, Hashimoto D, Sakamoto N, **Teshima T** : FIP1L1 presence in FIP1L1-RARA or FIP1L1-PDGFRα differentially contributes to the pathogenesis of distinct types of leukemia.
Ann Hematol 2014,93(9):1473-1481
8. Takashima S, Eto T, Shiratsuchi M, Hidaka M, Mori Y, Kato K, Kamezaki K, Oku S, Henzan H, Takase K, Matsushima T, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Akashi K, **Teshima T** :
The use of oral beclomethasone dipropionate in the treatment of gastrointestinal graft-versus-host disease: the experience of the Fukuoka blood and marrow transplantation (BMT) group.
Intern Med 2014,53(12):1315-1320

9. Takahata M, Hashino S, Onozawa M, Shigematsu A, Sugita J, Fujimoto K, Endo T, Kondo T, Tanaka J, Imamura M, **Teshima T** :Hepatitis B virus (HBV) reverse seroconversion (RS) can be prevented even in non-responders to hepatitis B vaccine after allogeneic stem cell transplantation: long-term analysis of intervention in RS with vaccine for patients with previous HBV infection. *Transpl Infect Dis* 2014,16(5):797-801
10. Arai S, Arora M, Wang T, Spellman SR, He W, Couriel DR, Urbano-Ispizua A, Cutler CS, Bacigalupo AA, Battiwalla M, Flowers ME, Juckett MB, Lee SJ, Loren AW, Klumpp TR, Prockup SE, Ringdén OT, Savani BN, Socié G, Schultz KR, Spitzer T, **Teshima T**, Bredeson CN, Jacobsohn DA, Hayashi RJ, Drobyski WR, Frangoul HA, Akpek G, Ho VT, Lewis VA, Gale RP, Koreth J, Chao NJ, Aljurf MD, Cooper BW, Laughlin MJ, Hsu JW, Hematti P, Verdonck LF, Solh MM, Norkin M, Reddy V, Martino R, Gadalla S, Goldberg JD, McCarthy PL, Pérez-Simón JA, Khera N, Lewis ID, Atsuta Y, Olsson RF, Saber W, Waller EK, Blaise D, Pidala JA, Martin PJ, Satwani P, Bornhäuser M, Inamoto Y, Weisdorf DJ, Horowitz MM, Pavletic SZ; Graft-vs-Host Disease Working Committee of the CIBMTR : Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation - A Report from CIBMTR. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Oct 30. [Epub ahead of print]
11. Hayase E, Fujimoto K, Mitsuhashi T, Hatanaka Y, Yoshida M, Takemura R, Iwasaki J, Shiratori S, Sugita J, Kondo T, Tanaka J, Imamura M, Matsuno Y, **Teshima T**: Epstein-barr virus-associated smooth muscle tumors after bone marrow transplantation. *Transplantation* 2014,97(1):e1-3.
12. **Teshima T** : JAK inhibitors: a home run for GVHD patients? *Blood* 2014,123(24):3691-3693.
- 和文雑誌
1. 杉田純一、**豊嶋泰徳**: Graft-versus-host disease 制御. *臨床血液* 55 (2): 170-176, 2014.
 2. 杉田純一、小杉瑞葉、**豊嶋泰徳**: 移植後シクロホスファミドを用いた HLA 半合致移植の現状と課題. *日本造血細胞移植学会雑誌* 2015,4(1): 9-22
2. 学会発表
1. **豊嶋泰徳** .造血幹細胞移植：HLAバリアを超えて. 第62回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2014年5月15日 . 奈良.
- 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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 当科にて同種造血幹細胞移植を受けた成人T細胞白血病症例の後方視的解析

研究分担者 田口潤 長崎大学 原爆後障害医療研究所・助教

研究要旨：同種造血幹細胞移植は、難治性である成人T細胞白血病（以下 ATL）の唯一の根治治療として期待されているが、重篤な合併症や再発などによりその成績は十分ではなく、移植成績の向上のため後方視的解析を行った。2000年1月～2013年12月までに急性型またはリンパ腫型 ATL と診断された年齢70歳以下の114症例を対象とした。114例のうち、同種造血幹細胞移植を受けたのは、41症例、42回であった。年齢中央値は48歳（35～65歳）で、同胞間骨髓移植4例、同胞間末梢血幹細胞移植11例、非血縁者間骨髓移植16例、非血縁者間臍帯血移植10例であった。生存者10例、死亡者31例と移植成績は不良であった。このデータベースを後方視的に解析することで、「成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）の最適な移植タイミングおよび移植源決定の為に臨床決断分析に関する研究」などの班研究に参加することが可能であると考えられた。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者の移植前予後因子を明らかにする目的で当院で同種移植を受けた ATL 患者を後方視的に解析した。

B. 研究方法

2000年1月から2013年12月までに当院で急性型あるいは慢性型 ATL と診断された70歳以下の ATL 症例114名について臨床的背景などについて解析した。

（倫理面への配慮）

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C. 研究結果

114名の症例のうち、当科にて同種

造血幹細胞移植を受けたのは、41名であった。年齢中央値は48歳（35～65歳）、同胞間骨髓移植4例、同胞間末梢血幹細胞移植11例、非血縁者間骨髓移植16例、非血縁者間臍帯血移植10例であった。生存者10例、死亡者31例であった。

D. 考察

同種造血幹細胞移植を受けたアグレッシブ ATL 症例の予後は不良であった。この移植症例のデータベースを後方視的に解析することで、「成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）の最適な移植タイミングおよび移植源決定の為に臨床決断分析に関する研究」などの班研究に参加することが十分可能であると考えられた。

E. 結論

ATL に対する同種造血幹細胞移植の成績を向上するために、多施設・多数例での検討が必要であると考えられた。

90 inhibitor NVP-AUY922 exerts potent activity against adult T-cell leukemia-lymphoma cells. *Cancer Sci* 105(12):1601-1608, 2014

F. 健康危険情報

なし

和文雑誌

1. 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*. 2015 Jan 26. doi: 10.1038/bmt.2014.308.
2. 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):464-472, 2014
3. 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

和文書籍

1. なし

2. 学会発表

1. 加藤丈晴、三好寛明、今泉芳孝、安東恒史、澤山 靖、新野大介、今西大介、**田口 潤**、波多智子、内丸 薫、大島孝一、宮崎泰司：第 54 回日本リンパ網内系学会総会：平成 26 年 6 月 19 日(木) - 6 月 21 日(土)：山形国際ホテル：発表：2 日目・20 日(金)：[優秀演題口演]08 Peripheral T cell lymphoma, not otherwise specified における TSLC 1 発現の検討．日本リンパ網内系学会誌 54 (予稿集)：p92,2014 ISSN1342-9248
2. 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：第 54 回日本リンパ網内系学会総会：平成 26 年 6 月 19 日(木) - 6 月 21 日(土)：山形国際ホテル：発表：3 日目・21 日(土)：[ポスターセッション 8 T/NK リンパ腫 ATLL など]P8-3 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．日本リンパ網内系学会誌 54 (予稿集)：p109, 2014 ISSN1342-9248
3. 糸永英弘、**田口 潤**、谷口広明、牧山純也、澤山 靖、今泉芳孝、吉田真一郎、福島卓也、森内幸美、宮崎泰司：

第 36 回日本造血細胞移植学会総会:平成 26 年 3 月 7 日(金)~9 日(日):沖縄
コンベンションセンター、ラグナガー
デンホテル、フェスト ネ: **発表者医
局外・共同研究発表**: 7 日(金)・1
日目:一般口演 21 O21-1 成人 T 細
胞白血病・リンパ腫症例における同種
造血幹細胞移植後再発時の浸潤臓器の
後方視的検討 第 36 回日本造血細胞移
植学会総会プログラム p227, 2014

4. 澤山 靖、**田口 潤**、今西大介、今泉
芳孝、波多智子、高園貴弘、宮崎泰司:
第 36 回日本造血細胞移植学会総会:平
成 26 年 3 月 7 日(金)~9 日(日):沖縄
コンベンションセンター、ラグナガー
デンホテル、フェスト ネ: **ポスター
発表**: 7 日(金)・1 日目:ポスター
セッション 22 P-V1-8 肺接合菌症
を合併した同種骨髄移植後成人 T 細胞
白血病リンパ腫の一例 第 36 回日本造
血細胞移植学会総会プログラム
p294, 2014
5. Takeharu Kato, Yoshitaka Imaizumi,
Hiroaki Taniguchi, Junya
Makiyama, Rena kamijyo, Hideaki
kitanosono, Yuki kobayashi,
Masataka Taguchi, Masatoshi
Matsuo, Koji Ando, Yasushi
Sawayama, Daisuke Niino, **Jun
Taguchi**, Daisuke Imanishi, Tomoko
Hata, Koichi Ohshima, Yasushi
Miyazaki : 第 76 回日本血液学会学術
集会:平成 26 年 10 月 31 日(金)・11
月 2 日(日):大阪国際会議場: **ポ
スター発表**: 31 日(金)・1 日目:ポ
スター 29 ATL-臨床病態 PS-1-212
Maintenance therapy in elderly
patients with adult T-cell
leukemia-lymphoma 臨床血液
vol.55(9) p1487,2014.

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 成人T細胞白血病の症例登録、および同種移植の至適タイミングおよび移植源決定の
為の臨床決断分析に関する研究

研究分担者 野坂 生郷 熊本大学医学部附属病院 がんセンター

研究要旨：成人T細胞白血病は、HTLV-1感染に惹起されるT細胞リンパ腫であるが、同種造血幹細胞移植法が行われるようになり、長期生存症例も認められている。その最適化に関してはまだ不明な点も多い。今回ATL症例について、移植適応も含め、臨床的な情報を集め、後方視的に解析を行ったところ、65例の症例のうち、11例が同種造血幹細胞移植を施行していた。治療反応性や移植タイミングなど課題がわかった。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者の移植前予後因子を明らかにする目的で当院での同種移植を受けた ATL 患者を後方視的に解析した。

B. 研究方法

2000年から2013年12月までに当院で治療を受けた65名について患者の臨床的背景と成績について解析した。

（倫理面への配慮）

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C. 研究結果

年齢中央値は57.6歳（35歳-69歳）であり、男性34例、女性31例であった。生存確認できた症例が10例あり、うち6例が同種造血幹細胞移植症例であった。多くは初回化学療法に奏功するものの、再発、再増悪を来し、化学療法抵抗性を示す症例が多く、追跡可能であった45例の平均生存期間は699日であり、移植成功例では長期生存している症例があった。

D. 考察

同種造血幹細胞移植は、宇都宮らが、10例のATL症例への報告をされて以来、長期生存が期待できる治療法として行われるようになってきている。しかし、ドナーの選定、移植のタイミング、高齢発症の疾患のため、適応外になるなどまだ問題も多い。今回の解析においては、65歳以上の症例は13例と比較的少なかったが、高齢者の移植に関しては、2000年代前半はあまり考慮されなかった。しかし最近では、70歳まで施行可能性を考えるようになっており、今後この年齢層への治療のひとつとなる可能性がある。さらに、治療反応性は初回治療ではあるものの、移植準備期間中に増悪した症例も多く認められ、治療反応性も本疾患の予後に大きく寄与していることが考えられ、移植施行例は比較的治療反応性がある症例である可能性が示唆された。

今回の予後追跡可能であった45例の解析では、平均生存期間が通常に比べ、比較的長かったが、1000日以上生存した症例が10例あり、うち3例が同種造血幹細胞移植を行われている。長期生存を

期待するための治療法であると考えられた。

E. 結論

同種造血幹細胞移植は、ATL の治療として、長期生存する可能性がある治療法であるが、そのタイミングや治療反応性も十分考慮する必要もある。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

Japan Clinical Oncology Group (JCOG) prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma (JCOG0902A).

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. Br J Haematol. 166:739-48, 2014

2. 学会発表

A nationwide survey of patients with adult T cell leukemia-lymphoma (ATL) in Japan: 2010-2011

Kisato Nosaka, Masako Iwanaga, Kenichi Ishizawa, Yoji Ishida, Kaoru Uchimaru, Kenji Ishitsuka, Masahiro Amano, Takashi Ishida, Yoshitake Imaizumi, Naokuni Uike, Atae Utsunomia, Koichi Ohshima, Kazuhiro Kawai, Junji Tanaka, Yoshiki Tokura, Kensei Tobinai, Toshiki Watanabe and Kunihiro Tsukasaki The 76th Annual Meeting of Japanese Society of Hematology OS-2-118 (Oral presentation, 1-Nov-2014, in Osaka)

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 進行期成人T細胞白血病に対する同種移植療法
ドナーソース別移植成績の後方視的解析

研究分担者 虎の門病院 血液内科・医員 山本久史

研究要旨：当院で同種造血幹細胞移植を受けたATL患者54名についてドナーソース間の比較を中心に臨床的背景と移植成績を後方視的に解析した。対象54例の年齢中央値は53(27-79)歳で、38例(70.3%)が非寛解期での移植であった。46例(85.1%)において、骨髄非破壊的前処置が用いられていた。ドナーソースは血縁末梢血幹細胞(rPB)：11例、非血縁者間骨髄(uBM)：9例、臍帯血(CB)：34例であった。CB群では高齢者や非寛解症例をより多く含んでいた。また移植決断から移植までの期間はCB群で有意に早い傾向がみられた(rPB群：48日、uBM群：148日、CB群：36日 $P=0.03$)。3年全生存率はrPB群：33.3%、uBM群：54.5%、CB群：11.6%と、CB群で不良であった($P=0.02$)。CB群における不良な患者背景が、移植成績に影響したと思われた。多変量解析では移植時病期(寛解 vs 非寛解)が唯一の予後不良因子であり、臍帯血移植は予後不良因子としては抽出されなかった。臍帯血は他のドナーソースが不在の場合はATLに対する有用なドナーソースになりうる事が示唆された。

A. 研究目的

臍帯血移植は白血病を中心とした難治性血液疾患に対する重要な治療方法として確立しつつあるが、進行期成人T細胞白血病(ATL)に対する臍帯血移植の報告は限られる。2002年以降当院では進行期ATLに対して臍帯血移植の実施可能性を探索的に検討してきた。本研究では臍帯血以外のドナーソースとの比較検討から、ATLに対する臍帯血移植の現状や有効性を後方視的に解析する事を目的とする。

B. 研究方法

2002年から2010年までに当院で同種造血幹細胞移植を受けたATL患者54名について臨床的背景と移植成績について後方視的に解析した。
(倫理面への配慮)
当院の倫理審査委員会の承諾のもと本解

析を行った。

C. 研究結果

対象54例の年齢中央値は53(27-79)歳で、38例(70.3%)が非寛解期での移植であった。46例(85.1%)において、骨髄非破壊の前処置が用いられていた。ドナーソースは血縁末梢血幹細胞(rPB)：11例、非血縁者間骨髄(uBM)：9例、臍帯血(CB)：34例であった。CB群では高齢者や非寛解症例をより多く含んでいた。また移植決断から移植までの期間はCB群で有意に早い傾向がみられた(rPB群：48日、uBM群：148日、CB群：36日 $P=0.03$)。3年全生存率はrPB群：33.3%、uBM群：54.5%、CB群：11.6%と、CB群で不良であった($P=0.02$)。患者背景の違い(CB群で高齢者かつ非寛解が多い)が、移植成績に影響したと思われた。多変量解析では移植時病

期(寛解 vs 非寛解)が唯一の予後不良因子であり、ドナーソースは予後不良因子としては抽出されなかった。また寛解期症例での全生存率は、各ドナーソース間で統計学的に有意な差はなかった (rPB 群:75%、uBM 群:83.3%、CB 群:42.9% $P=0.36$)、

D. 考察

当院で同種造血幹細胞移植を受けた ATL 患者 54 名についてドナーソース間の比較を中心に臨床的背景と移植成績を後方視的に解析した。臍帯血移植は他のドナーソースと比べてより高齢で非寛解患者を中心に施行されていた。また移植決断から移植までの期間は CB 群で有意に早かった。非寛解などの理由で他のソースを待てないもしくは不在の際に臍帯血移植が施行されている現状が明らかになった。多変量解析では移植時病期(寛解 vs 非寛解)が唯一の予後不良因子であり、臍帯血は予後不良因子としては抽出されなかった。また寛解期症例での全生存率は、各ドナーソース間で統計学的に有意な差はなかった。臍帯血は他のドナーソースが不在の場合は有用な移植ソースになりうる事が示唆された。また早期に臍帯血移植を決断、寛解期での移植症例を増やすことで ATL 全移植成績が改善する事が期待される。

E. 結論

臍帯血は他のドナーソースが不在の場合は ATL に対する有用なドナーソースになりうる事が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

Hisashi Yamamoto, Naoyuki Uchida, Naofumi Matsuno, Hikari Ota, Kosei Kageyama, Sachie Wada, Daisuke Kaji, Aya Nishida, Kazuya Ishiwata, Shinsuke Takagi, Masanori Tsuji, Yuki Asano-Mori, Go Yamamoto, Koji Izutsu, Kazuhiro Masuoka, Atsushi Wake, Akiko Yoneyama, Shigeyoshi Makino, Shuichi Taniguchi. Anti-HLA Antibodies Other than Against HLA-A, -B, -DRB1 Adversely Affect Engraftment and Nonrelapse Mortality in HLA-Mismatched Single Cord Blood Transplantation: Possible Implications of Unrecognized Donor-specific Antibodies. *Biol Blood Marrow Transplant.* Oct 2014;20(10):1634-1640.

H Yamamoto, N Uchida, N Matsuno, A Kon, A Nishida, H Ota, T Ikebe, N Nakano, K Ishiwata, H Araoka, S Takagi, M Tsuji, Y Asano-Mori, G Yamamoto, K Izutsu, K Masuoka, A Wake, A Yoneyama, S Makino and S Taniguchi. I.v. BU/fludarabine plus melphalan or TBI in unrelated cord blood transplantation for high-risk hematological diseases. *Bone Marrow Transplantation.* advance online publication, 26 January 2015

和文書籍

山本久史: ミニ移植. 白血病と言われたら - 発症間もない患者さんご家族のために - 疾患・治療編. P165-169, 特定非営利法人全国骨髄バンク推進連絡協議会 (東京), 2014.

2. 学会発表

Hisashi Yamamoto, Naoyuki Uchida, Kosei Kageyama, Sachie Wada, Daisuke Kaji, Aya Nishida, Kazuya Ishiwata, Shinsuke Takagi, Masanori Tsuji, Yuki Asano-Mori, Go Yamamoto, Koji Izutsu, Atsushi Wake, Shigeyoshi Makino, Shuichi Taniguchi: Anti-HLA antibodies other than against HLA-A, -B, -DRB1 adversely affect engraftment and non-relapse mortality in HLA-mismatched single cord blood transplantation: possible implications of unrecognized donor-specific antibodies. APBMT2014 (Oral).

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 成人T細胞白血病に対する臍帯血移植の最適化

研究分担者 長藤宏司 久留米大学医学部 内科学講座 血液・腫瘍内科部門・主任教授

研究要旨：成人T細胞白血病(以下 ATL)に対する同種臍帯血移植(CBT)の成績を後方視的に検討した。2003年8月から2013年6月までに当科で行われたATLに施行されたCBT13例で、年齢中央値55歳(37~69)、男女比は7対6であった。臨床病型は、急性型11例、リンパ腫型2例であった。診断から移植までの日数は中央値125日(83-3028) 移植目的で他院から紹介された症例、慢性型・くすぶり型から急性型へ移行した症例を除いた9例では、中央値120日(83-296)であった。移植前病期はCR4例、PR4例、SD2例、PD3例であった。生着不全は認めず、生着中央値は20日(16~30)であった。aGVHDはgrade1 3例、grade2 1例、grade3 7例、aGVHDなし 2例であった。移植後2年全生存率は41%。移植前の化学療法に感受性があった8人中6人が生存し、2年生存率は70%を超えている。化学療法感受性のATLに対して、CBTは根治的治療選択肢の1つと考えられる。

A. 研究目的

ATLに対する臍帯血移植(CBT)の最適化を検討する。

B. 研究方法

2003年8月から2013年6月までに当科で行われたATLに施行されたCBT13例について後方視的に検討する。

C. 研究結果

年齢中央値55歳(37~69)、男女比は7対6であった。臨床病型は、急性型11例、リンパ腫型2例であった。診断から移植までの日数は中央値125日(83-3028) 移植目的で他院から紹介された症例、慢性型・くすぶり型から急性型へ移行した症例を除いた9例では、中央値120日(83-296)であった。移植前病期はCR4例、PR4例、SD2例、PD3例で

あった。前処置は、TBI/CY 6例、Flu/Mel/TBI 4例、Flu/Bu16/TBI 2例、Flu/Bu16/Ara-C/TBI 1例であった。GVHD予防はCyA 1例、CyA+MTX 5例、CyA+MMF 1例、TAC+MTX 5例、TAC+MMF 1例であった。移植した有核細胞数中央値 $2.58 \times 10^7/\text{kg}$ ($2.12-5.34 \times 10^7/\text{kg}$)、CD34細胞数中央値 $1.15 \times 10^5/\text{kg}$ ($0.69-3.49 \times 10^5/\text{kg}$)、HLA1座不一致2例 2座不一致13例で、生着不全は認めなかった。生着中央値は20日(16~30)であった。aGVHDはgrade1 3例、grade2 1例、grade3 7例、aGVHDなし 2例であった。合併症(延べ人数)は細菌感染症 2例、真菌感染症 2例、ウイルス感染症 11例(内訳 CMV 0例 ADV 出血性膀胱炎 3例 BK 出血性膀胱炎 5例 HSV 1例 VZV 4例)、VODが1例、TMAが1例であった。移植後2年全生存率は41%。移植

前の化学療法に感受性があった8人中6人が生存し、2年生存率は70%を超えている。死亡した2人は再発によるものであった。化学療法抵抗性5症例は、全例再発により死亡している。

D. 考察

当科の移植合併症では、感染症とgrade3 aGVHDが多かった。症例数が少ないが、これまでに報告されているHLA一致非血縁者間移植やHLA一致血縁者間移植報告と遜色のないCBTの成績であった。JSHCTからATLに対する移植の全国集計で、診断から移植日までの日数6ヶ月以下が、血縁ドナー60%、骨髄バンク22%、臍帯血54%との報告がある(Blood 2010, 116, 1369)。当科での初発時からCBTまでの日数中央値は125日と比較的短かった。mLSG15によるPFS中央値は7ヶ月と報告されている(JCO 2007 25 5458)。幹細胞ソースによらず移植時治療抵抗性は、最も強い予後不良因子の1つである。ATLに対する治療開始後、PDに進行する以前に移植を行えることがCBTの利点と考えられる。

一方、CBTは移植後、DLIが不可能であるという欠点がある。当科では、移植前化学療法抵抗性では全例がPDで死亡している。今後、移植後のHTLV-1ウイルス量モニタリングなどにより腫瘍量をより正確に測定し、移植後の抗体療法併用、臍帯血による養子免疫療法などを検討することで、移植再発を減少させることが必要と考える。

E. 結論

ATLに対するCBTは、治療選択肢の一つである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Ito Y, Miyamoto T, Kamimura T, Aoki K, Henzan H, Aoki T, Shiratsuchi M, Kato K, Nagafuji K, Ogawa R, Eto T, Iwasaki H, Akashi K. Characteristics of Patients With Development of Large Granular Lymphocyte Expansion Among Dasatinib-Treated Patients With Relapsed Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia After Allogeneic Stem Cell Transplantation. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2014.

2. Takata Y, Seki R, Kanajiri T, Nohara M, Koteda S, Kawaguchi K, Nomura K, Nakamura T, Morishige S, Oku E, Osaki K, Hashiguchi M, Mouri F, Yoshimoto K, Nagafuji K, Okamura T. Association between Thromboembolic Events and the JAK2 V617F Mutation in Myeloproliferative Neoplasms Cancer. Kurume Med J. 2014.

3. Koyama M, Hashimoto D, Nagafuji K, Eto T, Ohno Y, Aoyama K, Iwasaki H, Miyamoto T, Hill GR, Akashi K, Teshima T. Expansion of donor-reactive host T cells in primary graft failure after allogeneic hematopoietic SCT following reduced-intensity conditioning. Bone Marrow Transplant. 2014;49:110-115.

4. Kodera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S, Ikeda Y, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Kato S, Tanimoto M, Kanda Y, Tanosaki R, Shiobara S, Kim SW,

Nagafuji K, Hino M, Miyamura K, Suzuki R, Hamajima N, Fukushima M, Tamakoshi A, Halter J, Schmitz N, Niederwieser D, Gratwohl A. PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. Bone Marrow Transplant. 2014;49:195-200.

5. Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of patients with adult T cell leukemia/lymphoma with cord blood transplantation: a Japanese nationwide retrospective survey. Biol Blood Marrow Transplant. 2014;20:1968-1974.

2. 学会発表

1. 奥英二郎 シンポジウム：
成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATLL)
に対する造血幹細胞移植の最適化
CBT の最適化 第 36 回日本造血細胞
移植学会総会 2014 年 沖縄

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 成人T細胞白血病リンパ腫に対する骨髄非破壊的前処置を用いた臍帯血移植の安全性と有効性の検討

研究分担者 崔日承 独立行政法人国立病院機構九州がんセンター 血液内科 医師

研究要旨：ATLに対する骨髄非破壊的前処置を用いた臍帯血移植の安全性を検討する多施設共同臨床研究を実施した。2012年9月から2013年3月までに15例の移植が行われ、15例中11例が主要評価項目である移植後100日以内の生着と移植後100日時点での生存を達成し、本治療法は安全に施行出来ると結論される。移植後観察期間中央値468日の時点で、15例中9例が生存中である。

A. 研究目的

ATL 患者に対する骨髄非破壊的前処置を用いた臍帯血移植の安全性と有効性を検討する。

B. 研究方法

前方視的、多施設共同臨床研究を行う。

対象：以下の全てを満たす患者を対象とした。急性型またはリンパ腫型 ATL。

移植時の年齢が 50 歳以上 65 歳以下。

化学療法等により完全寛解、または部分寛解が得られている。適切な血縁ドナー、非血縁骨髄ドナーが得られない。

適切な臍帯血ユニットが得られる。

本人より文書により同意が得られている。

骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁臍帯血移植：フルダラビン(30mg/m²)

6日間、メルファラン(40mg/m²)2日間、全身放射線照射(4Gy)を行い、急性移植片対宿主病(GVHD)予防はタクロリムスとミコフェノールモフェチルを用い、単一ユニットの臍帯血を移植した。主要評価項目：移植後100日以内の生着と移植後100日での生存。副次評価項目：移植後100日までの有害

事象、ドナー型キメラリズムの達成割合、移植後100日以内の非再発死亡率、急性GVHD、慢性GVHDの発症割合、移植後1年、2年の全生存割合、無増悪生存割合など。

(倫理面への配慮)

各参加施設の倫理審査委員会の承認をいただき、患者本人により本研究への参加について文書による同意を得、実施した。

C. 研究結果

17施設で倫理委員会の承認を得た。2012年9月から2014年3月までに、目標の15例の移植が完了した。年齢中央値は62歳(55-65)、男性8名、急性型13例、登録時完全寛解6例であった。100日以内の非再発死亡は1例(多剤耐性緑膿菌による敗血症)であった。移植後早期再発死亡(100日以内)を3例認めた。主要評価項目である移植後100日以内の生着と移植後100日時点での生存は、15例中11例で達成し、本治療法は安全に施行出来ると結論される。移植後観察期間中央値468日(308-847)

で、9例が生存、経過観察中である。現在、症例報告書の集積と、さらなる解析準備中である。

D. 考察

化学療法のみでは治癒を得ることが困難な ATLL に対して、同種造血細胞移植は治癒を望める治療法と位置づけられている。造血細胞移植学会を中心とした登録 data に基づく後方視的な解析によると、臍帯血移植は他の移植幹細胞源に比較して移植成績が劣ると報告されてきた。一方、ATLL の治療開始から比較的早期の、化学療法感受性が認められている時期に臍帯血移植を行うことで、良好な成績が得られることが最近報告された。臍帯血移植はドナー検索にかかる時間が他の移植細胞源に比較して短い長所がある一方、移植後、生着までに時間を要することや移植後再発時にドナーリンパ球輸注が出来ないことなど短所も指摘されている。しかし、ATLL に対する同種造血細胞移植において、移植細胞源の選択肢を広げるためにも、臍帯血を用いた移植療法の評価は重要である。少数例ではあるものの、前方視的な治療研究により、まずは安全性の評価を行った結果、安全に施行しうることが確認された。

E. 結論

ATLL に対する骨髄非破壊的前処置を用いた臍帯血移植は安全に施行可能である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of patients with adult T cell leukemia/lymphoma with cord blood transplantation: a Japanese nationwide retrospective survey. *Biol Blood Marrow Transplant.* (2014) 20 (1968-1974)
2. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol.* (2013) 190 (4382-4392)
3. Suehiro Y, Hasegawa A, Iino T, Sasada A, Watanabe N, Matsuoka M, Takamori A, Tanosaki R, Utsunomiya A, Choi I, Fukuda T, Miura O, Takaishi S, Teshima T, Akashi K, Kannagi M, Uike N, Okamura J. Clinical outcomes of a novel therapeutic vaccine with Tax peptide-pulsed dendritic cells for adult T-cell leukaemia/lymphoma in a pilot study. *Br J Haematol* (2015) (in press).

2. 学会発表

1. 崔日承, ATLL に対する骨髄移植・末梢血幹細胞移植の最適化,

第36回 日本造血細胞移植学会
総会 シンポジウム「成人T細胞
白血病/リンパ腫(ATLL)に対
する造血幹細胞移植の最適化」
沖縄 2014年3月5日-7日

2. Unrelated bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning regimen for elderly patients with adult T-cell leukemia/lymphoma, feasibility study with two year follow up data, Choi I, Eto T, Tanosaki R, Shimokawa M, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Takemoto S, Taguchi J, Fukushima T, Kato K, Teshima T, Nakamae H, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N, 19th Congress Of The European Hematology Association (Poster, 14-June-2014, Milan, Italy)
3. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T cell leukemia/lymphoma, Choi I, Uike N, 12th Annual Meeting of Japanese Society of Clinical Oncology (Workshop, 17-July-2014, Fukuoka)
4. Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation Using Reduced-Intensity Conditioning Regimen with Fludarabine and Busulfan from HLA-Matched Related Donor for Elderly Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma: Results of Multicenter Phase

II Study (ATL-NST-3),
Tanosaki R, Choi I,
Shimokawa M, Utsunomiya A,
Tokunaga M, Nakano N,
Fukuda T, Nakamae H,
Takemoto S, Kusumoto S,
Tomoyose T, Sueoka E,
Shiratsuchi M, Suehiro Y,
Yamanaka T, Okamura J, and
Uike N, 56th American
Society of Hematology Annual
Meeting and Exposition
(Poster, 7-December-2014,
San Francisco, CA)

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立および
ゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 臍帯血移植患者におけるホスカルネットを用いたHHV-6脳炎予防試験

研究分担者 緒方正男 大分大学医学部 腫瘍・血液内科 講師

研究要旨：本試験は、造血器悪性腫瘍に対し臍帯血移植を施行する患者を対象とし、HHV-6 脳炎予防を目的にホスカルネット 90 mg/kg,21 日間の投与を行い、有効性と安全性を評価する。12 施設の同種造血幹細胞移植専門医により前方視的研究の試験デザインを立案し、プロトコルを確定した。研究事務局や試験薬供給体制を確立し、2014 年 11 月 15 日に試験開始に至った。今後症例登録を進めていく。

A. 研究目的

HHV-6 脳炎は同種造血細胞移植後の HHV-6 再活性化に伴って発症する予後不良の合併症である。臍帯血移植は発症のリスクが高く、また ATL ではその高い発症リスクが危惧されている。HHV-6 脳炎発症例の予後は不良であるが、発症予防法は確立していない。本試験では臍帯血移植を受ける造血器腫瘍患者（ATL 含む）を対象に HHV-6 脳炎予防を目的にホスカルネット 90 mg/kg,21 日間の投与を行い、有効性と安全性を評価する。

B. 研究方法

対象：第 1 回目の同種造血細胞移植として臍帯血移植を行なう 16 歳以上の症例

方法：非盲検多施設共同第 II 相試験

・造血幹細胞移植後 day 60 まで週 2 回血漿 HHV-6 DNA の測定を行なう

・造血幹細胞移植後 day 7 より day 27 までの 21 日間、ホスカルネット

90mg/kg/day の点滴静脈注射を行う。

主要評価項目：

・移植後 60 日までの血漿 HHV-6 DNA \geq 10,000 copies/ml の累積再活性化割合

副次的評価項目：

・安全性

腎機能障害、電解質（Ca, Mg, K, Na）異常、消化管症状について、CTCAE ver4 に従い、評価を行う

・移植後 day 60 までの HHV-6 脳炎、およびその疑い例の発症割合

・移植後 day60 時点での全生存割合

・非再発死亡、再発、急性 GVHD の累積発症割合

・ホスカルネット投与日数と HHV-6 再活性化の関連

・ホスカルネット 21 日間予防投与完了例における血漿 HHV-6 DNA \geq 10,000 copies/ml の再活性化割合

（倫理面への配慮）

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行う。

C. 研究結果

フルプロトコル作成、研究体制を確立し、2014 年 11 月 15 日に試験開始（症例登録開始）に至った。2015 年 3 月時点 8 例が登録されている。目標症例数は 50 例である。

D. 考察

予防的ホスカルネット投与がHHV-6再活性化の抑制および脳炎発症予防に寄与出来るかを検証する。

E. 結論

同種造血幹細胞移植 HHV-6 脳炎予防試験を開始した。

F. 健康危険情報

なし

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

G. 研究発表

1. 論文発表

- Toriumi N, Kobayashi R, Yoshida M, I guchi A, Sarashina T, Okubo H, Suzuk i D, Sano H, Ogata M, Azuma H: Risk factors for human herpesvirus 6 reactivation and its relationship with syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion after stem cell transplantation in pediatric patients. J Pediatr Hematol Oncol 36: 379-383, 2014
- Zerr DM and Ogata M: HHV-6A and HHV-6B in recipients of hematopoietic cell transplantation. Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B & HHV-7, Diagnosis and Clinical Management, third edition
- Okada F, Sato H, Omeri AK, Ono A, Tokuyama K, Ando Y, Matsumoto A, Ogata M, Kohno K, Takano K, Mori H. Chest HRCT findings in acute transformation of adult T-cell lymphoma/leukemia. Eur Radiol 2015 [Epub ahead of print]
- 緒方正男: 同種造血細胞移植後のHHV-6再活性化と脳炎. 血液内科 2014 68, 682-688

2. 学会発表

- 緒方正男: 「移植医療と感染症」 / 同種造血細胞移植と感染症. 第88回日本感染症学会学術集会
- Moroga Y, Ogata M, Yoshida N, Takata H, Nagamatsu K, Nashimoto Y, Takano K, Saburi Y, Kohoo K, Ikebe T, Shirao K: Hypofibrinogenemia associated with steroid therapy in patients who developed GVHD after HSCT. 第76回日本血液学会学術集会

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）

成人T細胞白血病に対する標準治療としての同種造血幹細胞移植法の確立およびゲノム解析に基づく治療法の最適化に関する研究

題名 造血幹細胞移植臨床試験システムの確立と検証、移植データの統計解析

研究分担者 山口 拓洋 東北大学大学院医学系研究科 / 医学統計学分野 教授

研究要旨:成人T細胞白血病に対する同種造血幹細胞移植患者の前向き登録システムの確立（前向きコホート研究の実施）、臍帯血移植患者におけるホスカルネット予防試験及び同種移植の至適タイミングに関する臨床決断分析に関する統計学的事項の検討を行った。

A. 研究目的

成人T細胞白血病(ATL)の8割を占める急性型・リンパ腫型 ATL(aggressive ATL)に対して、化学療法や抗体療法が開発されたが、依然として生存期間中央値は1年未満であり治癒は期待できない。一方、同種造血幹細胞移植(同種移植)はドナーの免疫力による抗腫瘍効果(GVL 効果)が強力であり、治癒を目指す aggressive ATL 患者において標準治療と考えられているが、70歳以下の aggressive ATL 患者の約1/3しか同種移植を受けていないのが現状である。平成25年度以降、ATLに対する同種移植に重点を置いた厚生労働科学研究班がないため、これらの問題への対策が遅れている。

研究班の目的は、最適なタイミングで安全性の高い同種移植を行えるシステムを構築し、検体バンキング基盤と付随研究により治療法の最適化を目指し、aggressive ATL に対する治療成績を短期間で向上させることである。平成26年度中に前向きコホート研究とバンキング・付随研究プロトコルの倫理審査を行い、症例登録を開始し、平成28年度途中までの2年間、年間50例を目標に登録を完了する。

このうち、研究分担者は前向き登録システムの確立(前向きコホート研究の実施)、臍帯血移植患者におけるホスカルネット予防試験、同種移植の至適タイミングに関する臨床決断分析、の統計学的事項に関与する。

B. 研究方法

以下の臨床研究の計画・実施・解析等の統計学的事項に関与する。

・前向き登録システムの確立

移植適応となる70歳以下の急性型・リンパ腫型 ATL 患者を前向きに登録するコホート研究システムを確立する。診断後早期に HLA 検査、HLA 一致血縁・非血縁骨髄バンクドナー検索を行い、診断後6か月以内に同種移植を施行することを推奨する。前向きコホート研究プロトコル(年間50例,2年間登録予定)の倫理審査を平成26年度中に行い、症例登録を開始する。

・臍帯血移植患者におけるホスカルネット予防試験

臍帯血移植後、高頻度に発症する HHV6 脳炎に対してホスカルネット (FCN) 予防投与を行う多施設共同臨床試験プロトコル(目標症例数50例)の変更手続きを倫理審査委員会で行い、平

成 26 年度から症例登録を開始する。

・同種移植の至適タイミングに関する臨床決断分析

70 歳以下の急性型・リンパ腫型 ATL 患者を対象として、平成 26 年度に臨床決断分析を行う。平成 26 年度中にデータベース構築を行い、QOL およびコストも考慮した同種移植の位置づけや最適な移植のタイミング・ドナー選択法を明らかにする。

(倫理面への配慮)

倫理審査委員会の承諾のもと本研究を行った。

C. 研究結果

・前向き登録システムの確立

目的及び試験デザインを以下と設定した。

<目的>

本研究の主たる目的は、移植適応となる 70 歳以下の進行期 ATL 患者を前向きに登録し、診断後早期に HLA 検査、HLA 一致血縁・非血縁骨髄バンクドナー検索および診断後 6 か月以内に同種移植を施行することを推奨し、積極的に同種造血幹細胞移植を施行する本研究と既報の治療成績を比較検討する。

<主要評価項目 (primary endpoint)>

ATL 診断後の 2 年全生存割合

<試験デザイン>

本研究は多施設共同の前方視的コホート研究である。本研究では、同種移植を積極的に行うことを推奨する本コホートの成績が、既報の化学療法単独の成績を上回るかどうかを検証する。

ATL に対する化学療法単独での治療成績は、日本臨床腫瘍研究グループ (JCOG) から報告されている。JCOG9303 における多剤併用化学療法レジメン LSG15 による成績は、2 年生

存率 31% であり、同療法を一部改良した mLSG15 (JCOG9801) では 3 年全生存率は 24% と報告されている。しかしこの報告は前向き臨床試験で選択された患者群での成績であり、実際の臨床での成績はさらに下回ると予測される。実際に ATL 患者数の多い九州地方の数施設への聞き取り調査では、化学療法単独での 2 年全生存率は 10-15% 程度という意見であった。そこで本研究において、化学療法単独での 2 年全生存率は 15% 程度と予測した。

一方、ATL に対する同種移植の治療成績は、本邦のレジストリーデータからの報告によると 3 年全生存率は全症例で 33%、HLA 適合血縁者間移植で 41%、HLA 不適合血縁者間移植で 24%、HLA 適合非血縁者間移植で 39%、臍帯血移植で 17% と報告されている。また国立がん研究センター中央病院当院単施設 (症例数 76 例) での後方視的解析では、2 年全生存率は 56.9% という結果であった。これらより同種移植群での 2 年全生存率は少なくとも 35% 程度と予測した。

現状では移植適応となる ATL 患者の約 1/3 の患者 (年間約 140 名) しか同種移植を受けていないが、本研究で同種移植を積極的に行うことを推奨することで同種移植施行率が 33% から 50% 程度に引き上げられると予測した。よって本コホートで期待される 2 年全生存率は、 $15\% \times 1/2 + 35\% \times 1/2 = 25\%$ 程度と予測した。

<登録症例数設定の根拠>

上記より、本研究における全症例での 2 年全生存率は期待生存率 25%、閾値生存率 15% で有意水準両側 5%、検出力 80% とした場合の必要症例数は 97 例となる。登録後の脱落例・評価不能例を数例見込み、目標登録症例数を 100 例と

した。

・臍帯血移植患者におけるホスカルネット予防試験

データの解析方法を以下に設定した。

<解析方法>

主要評価項目である移植後 60 日の血漿 HHV-6 DNA \geq 10,000 copies/ml の累積再活性化割合について、累積割合 (Cumulative incidence) の点推定値と 90%信頼区間を算出する。その際、死亡および原疾患再発や生着不全に対する再移植を競合リスクとする。また、ホスカルネット予防投与を開始された例は、毒性により中止された場合も含めて解析対象とし intention-to-treat の原則に従い解析を行う。移植後 60 日の累積再活性化割合の 90%信頼区間の上限が閾値再活性化割合の 50%を下回っていた場合に、ホスカルネット投与が有効であると判断する。

・同種移植の至適タイミングに関する臨床決断分析

データ収集中で、解析計画を策定中である。

D . 考察

前向き登録システムの確立における前向きコホート研究は、この集団の中で移植と化学療法を比較する目的でなく、現状では全体の 3 分の 1 しか移植まで到達できていないところを、早めの移植を推奨することで移植施行率を 5 割程度まで上げて、全体の成績を向上できないかどうかという目的を鑑み、研究デザインの策定を行った点がポイントである。

E . 結論

成人 T 細胞白血病に対する同種造血幹細胞移植患者の前向き登録システムの確立 (前向きコホート研究の実施)

臍帯血移植患者におけるホスカルネット予防試験及び同種移植の至適タイミングに関する臨床決断分析に関する統計学的事項の検討を行った。

F . 健康危険情報
なし

G . 研究発表

1. 論文発表

和文雑誌

1. 黒澤彩子、森 文子、塚越真由美、山口拓洋、金 成元、藤 重夫、山下卓也、田野崎隆二、福田隆浩: 同種造血幹細胞移植後の長期フォローアップシステム: 単施設の実現可能性調査. 日本造血細胞移植学会雑誌 2014, 3(2): 49-58.

2. 学会発表

Kurosawa S, Yamaguchi H, Yamaguchi T *et al.* Decision Analysis of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Versus Chemotherapy in Cytogenetically Standard-Risk Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: The Impact of FLT3-ITD Profile. 56th ASH Annual Meeting and Exposition.

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