
第 63 回中国・四国支部総会

会 期：2018 年 2 月 17 日～18 日
 会 場：岡山大学医学部臨床講義棟臨床第 2 講義室
 総会長：本倉 徹(鳥取大学医学部医学科病態解析医学講座
 臨床検査医学分野)

特別講演

▷第 63 回中国・四国支部総会 特別講演(1)◁

成人 T 細胞白血病リンパ腫における フローサイトメトリー検査と応用

内 丸 薫*

Use and Application of Flow Cytometry for Adult T-cell Leukemia-Lymphoma

*Kaoru UCHIMARU, MD, PhD**

Adult T-cell leukemia is one of the most intractable hematological diseases, which is caused by HTLV-1 infection. Kyushu and Okinawa are the most endemic areas in Japan but the distribution of HTLV-1 carriers is changing because of migration to megalopolises such as Tokyo and Osaka. ATL is divided into 4 subtypes: smoldering, chronic, lymphoma, and acute types, and the latter two are called aggressive types. Treatment outcomes of chemotherapies showed little improvement for more than 40 years. Recently, hematopoietic stem cell transplantation was shown to improve treatment outcomes for ATL. Morphological estimation of tumor cells in the peripheral blood is very important for sub-classification or evaluation of the treatment outcome for ATL, but it is often difficult to discriminate tumor cells from normal lymphocytes because morphological abnormalities are ambiguous. We developed a new flow cytometric analysis system to detect ATL cells, which we named HAS-Flow (HTLV-1 Analysis System). HAS-flow detects ATL cells as CD3^{dim}/CD7-negative populations, which revealed the presence of an intermediate population. This system could not separate normal CD4 T lymphocytes from these intermediate cells, so we introduced analysis of CADM1 expression in this system. The new flow cytometric system successfully separated CADM1⁻/CD7⁺ (P) normal CD4 T cells, CADM1⁺/CD7⁻ (N) ATL cells, and an intermediate population (D). The CADM1/CD7 expression pattern reflects the progression of HTLV-1-infected cells into ATL cells. The D and N populations detected in the peripheral blood share many characteristics with aggressive ATL cells, which means basically these cells have features in common with ATL cells even in the carrier state. HAS flow is useful for monitoring the clinical course of ATL and HTLV-1 carriers. 【Review】

[Rinsho Byori 66 : 867~875, 2018]

*東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻病態医療科学分野(〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1)

Corresponding author: *Kaoru UCHIMARU*, MD, PhD, Laboratory of Tumor Cell Biology, Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, the University of Tokyo, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan. E-mail: uchimaru@cbms.k.u-tokyo.ac.jp

【Key Words】 human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1(ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型)、adult T-cell leukemia-lymphoma: ATL(成人 T 細胞白血病リンパ腫)、cell adhesion molecule 1: CADM1、flow cytometry(フローサイトメトリー)、HAS (HTLV-1 analysis system)-flow(HAS-フロー)

成人 T 細胞白血病リンパ腫 (Adult T-cell leukemia-lymphoma: ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (Human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1) の感染によって起こる末梢性 T 細胞腫瘍である。ATL は 1977 年、当時京都大学の Uchiyama、Takatsuki らにより新しい clinical entity として提唱された¹⁾。ATL の疾患概念の提唱までは、皮膚病変を伴う T 細胞性腫瘍として Sézary 症候群や皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) と診断されたり、ATL のうちリンパ節病理組織が Hodgkin like の組織像を示すものは Hodgkin リンパ腫と診断されていたとみられ、これらの疾患が九州に多いのはなぜかという疑問がもたれていた。また、通常 B 細胞性である慢性リンパ性白血病に似た T 細胞性の腫瘍が見られ、予後が悪いことが知られていた。Uchiyama、Takatsuki らはこれらの症例の、核に深い切れ込みが見られる形態的に特異な腫瘍細胞を認めること、高率に皮膚病変を認めること、患者の出身地が九州、南西諸島に大きく偏った特異な分布を示す、などの特徴から ATL という新しい疾患概念として提唱した。ATL の発見には有名なエピソードがある。当時、現在でいう ATL にあたる症例を診療していた高月は、患者の顔貌が似ている、いわゆる縄文人系の顔貌であることに気づき、病歴を確認すると全員九州出身であったことから出身地の特異な分布に気づいたというものであるが、このエピソードは臨床において患者をよく観察することの重要性に改めて気づかせてくれる。ATL の地域集積性は、この疾患の原因として環境的要因が関わることを示唆しており、その中の一つとして感染症があげられ、ATL の報告の当初から何らかのウイルス感染の関与が疑われた²⁾。その後 Miyoshi、Hinuma、Gallo らにより ATL がウイルス感染によるものであること、その原因ウイルスの分離などが報告され^{3)~4)}、1982 年には Yoshida らにより約 9 kB のレトロウイルスの全ゲノム配列が決定された⁵⁾。これが現在の

HTLV-1 である。

HTLV-1 感染者の本邦における分布は当初想定されたように偏りがあり、九州、南西諸島、四国太平洋沿岸から豊後水道寄りにかけての地域、隠岐、紀伊半島沿岸部、伊豆半島、東北地方太平洋沿岸地域などをあげることができる。世界的に見ても高浸淫地域 (endemic area) とそうでない地域があり、赤道アフリカ、南アフリカ、ニューギニア、オーストラリアの一部、カリブ海沿岸諸国、南米、そして日本などが endemic area である⁶⁾。本邦における HTLV-1 感染者は 1988 年の献血データをもとにした推定では約 120 万人、そのうち九州、沖縄地方在住者の比率は 50.9%、関東地方在住者の比率は 10.8%であったが⁷⁾、2007 年の同様の調査では全国で 108 万人と微減していたにも拘らず、関東地区在住者の比率は 17.3%と増加していた。これは HTLV-1 感染者が首都圏へ移住することにより国内の分布が変わってきていることを示唆し、endemic area のみではなく、むしろこれまであまり認識されてこなかった、non-endemic area の大都市における対策が重要であることを示している。2011 年から国による HTLV-1 総合対策が開始され、妊婦は原則として全例公費負担で抗 HTLV-1 抗体のスクリーニングを受けている。2012 年の妊婦検診における抗 HTLV-1 抗体陽性者の都道府県別推定によれば、大阪が鹿児島に次いで全国第 3 位、東京も長崎について第 5 位であり、大都市圏における対策が必要であることを物語っている。2016 年に行われた推定では全国で約 82 万人となっており、漸減傾向にはあるが、今後とも全国レベルでの対策が必要となる。

1. ATL と HTLV-1

ATL は HTLV-1 の発見の契機となった疾患であるが、HTLV-1 は他にも HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1 associated myelopathy: HAM)、HTLV-1 ぶどう膜炎

(HTLV-1 uveitis: HU)など、炎症性疾患も惹き起こす。これらの疾患を発症するのは感染者のうちのごく一部であり、ATLの感染者における生涯発症率は5%程度、HAMについては0.3%程度と推定されている。HTLV-1の感染ルートはほとんどが母乳を介した母児感染、性交渉による感染と考えられている。かつては輸血感染があったと考えられるが、1986年以降日赤で抗HTLV-1抗体検査が導入されて以降は皆無と考えられる。

ATLを発症するのは母児感染例と考えられているが、ATL患者の年齢中央値は最新の第11次全国調査では68.8歳であり⁸⁾、感染からATLの発症まで約70年かかることになる。HTLV-1感染によりポリクローナルに増殖し不死化した感染細胞に次第に遺伝子異常、エピジェネティックな異常などが積み重なり多段階発がんを惹き起こしていくと考えられる。この過程の、どこからを腫瘍と呼ぶかは、腫瘍というものの定義の仕方によると考えられる。このことはATL、特にindolent ATLをどのように診断するかと密接に関連する問題である。少なくともHTLV-1感染者の末梢血中に異常リンパ球が見られるというだけではATLという診断にはならない点に留意すべきである。ATLは1992年に提唱された下山分類(Table 1)が現在でもスタンダードである。下山分

類ではATLは、くすぶり型、慢性型、リンパ腫型、急性型、の4病型に分けられるが、そのうち前2者は比較的緩徐な経過を取ることからindolent ATL、一方後2者は急激な経過を取ることからaggressive ATLにさらに分類される。それぞれの頻度は前出の第11次調査によれば、くすぶり型10.6%、慢性型14.2%、リンパ腫型25.7%、急性型49.5%でindolent ATLは比較的少なく、典型的なATLはaggressive ATLであるということが出来る⁸⁾。このうち、くすぶり型は末梢血中の異常リンパ球が5%以上認められ、一部皮膚病変ないし肺病変を認める症例以外は臓器浸潤を伴わず、ほかの検査データも正常、ないし軽微な異常にとどまるものである。上述の、腫瘍とは何か、という観点からは、改めて、くすぶり型ATLと無症候性キャリアとの境界をどう考えるかは検討の余地があると思われる。この点については改めて議論する。慢性型は末梢血中のリンパ球の絶対数が4,000/mm³以上に増加しているタイプで、ATLにおける慢性リンパ性白血病のcounterpartに相当するものである。慢性型は中枢神経、骨、消化管浸潤および胸腹水はあってはならないが、リンパ節腫脹の有無については規定がないことに注意を要する。リンパ節腫脹があるだけではリンパ腫型、急性型にはならない。

Table 1 ATLの下山分類

	くすぶり型	慢性型	リンパ腫型	急性型
抗HTLV-1抗体	+	+	+	+
リンパ球数(×10 ⁹ /L)	<4	≥4	<4	
異常リンパ球	≥5%(a)	+(b)	≤1%	+
花細胞(flower cell)	時々	時々	-	+
LDH	≤1.5N	≤2N		
補正カルシウム(mEq/L)	<5.5	<5.5		
組織診のあるリンパ節腫大	no		yes	
腫瘍病変				
肝腫大	no			
脾腫大	no			
中枢神経	no	no		
骨	no	no		
腹水	no	no		
胸水	no	no		
消化管	no	no		
皮膚	(b)			
肺	(b)			

(a) 異常Tリンパ球が5%未満の場合、皮膚や肺に腫瘍性病変があることが組織診で証明されていること。

(b) 異常Tリンパ球が5%未満の場合、組織診で証明された腫瘍性病変が必要。

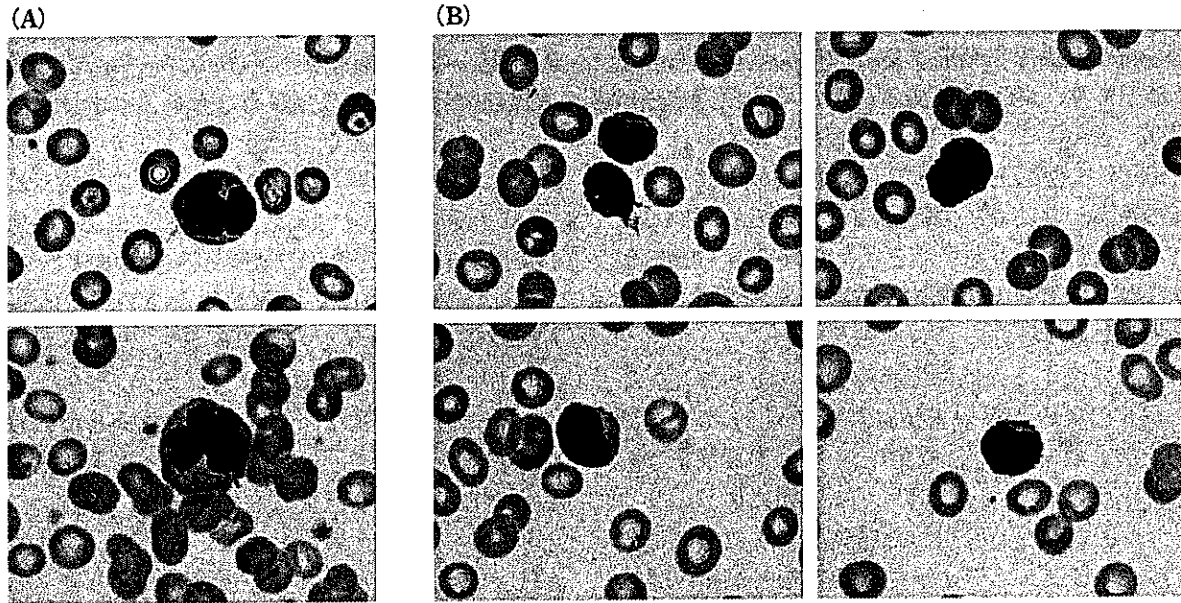


Figure 1 ATL患者末梢血に見られる異常リンパ球

(A) 比較的典型的な flower cell。(B) 異型性が軽度な異常リンパ球：境界領域の異型性の場合、どこからを異型リンパ球と診断するか判断に迷うこともあり、鏡検者によって結果が異なることがありうる。

Aggressive ATLの化学療法の成績は、種々の臨床試験が行われてきたにも拘らず大きな改善はみられておらず、第11次全国調査の予後調査の結果では生存期間中央値は9ヵ月前後と、下山分類が発表された時代と比べてほとんど改善がみられていない。2000年代に入ってATLに対しても適応のある症例を対象に造血細胞移植が積極的に行われるようになってきており、HLA一致血縁、非血縁移植で40%程度の長期生存が得られている⁹⁾。また、おもに化学療法難治、再発例を対象に抗CCR4抗体(mogamulizumab)¹⁰⁾、レナリドマイド¹¹⁾などが導入され、治療成績の改善が期待されている。

II. HAS-Flowの開発

下山分類に従った病型分類において、また、ATLの治療効果を判定するにあたり、末梢血中異常リンパ球の定量は非常に重要な意味を持つ。典型的なATLにおける異常リンパ球(腫瘍細胞)はFlower cell(花細胞)として大変有名な核に深い切れ込みのある特徴的な形態をとるが、急性型などにおいても異型性の軽い非典型的な腫瘍細胞も多く、くすぶり型、慢性型などのindolent ATLにおいては、むしろそういった細胞が普通であり、熟練した鏡検者でないと、しばしばその鑑別が困難である(Fig. 1)。そこで我々は急性白血病におけるblast gatingのような、

Flow cytometryによるATL細胞の定量的評価を試みた。ATL細胞はCD3の発現がdown-regulateされており、ほとんどの症例でCD7が陰性であることから、まずCD4陽性細胞におけるCD3/7の発現によりCD4⁺/CD3^{dim}/CD7⁻の細胞集団として検出する系を開発しHAS(HTLV-1 Analysis System)-flow法と命名した(Fig. 2)¹²⁾。CD4⁺/CD3^{dim}/CD7⁻の集団をソーティングしてサイトスピン標本で形態を観察すると、この分画は異常リンパ球の集団であり、inverse PCRによるHTLV-1プロウイルスの組み込み部位の解析、フローサイトメトリーを用いたTCRのレパトア解析の結果、クローナルに増殖している集団であることが示され、ATLの腫瘍細胞を検出しているものと考えられた。ATL患者末梢血標本を熟練した技師が鏡検して計測した末梢血中異常リンパ球比率から算出した異常リンパ球数と、本法により算出した異常リンパ球数は、linear regression 1.034、Pearson's R=0.963と極めて良い相関を示した¹³⁾。

aggressive ATL症例の末梢血をHAS解析すると、CD4⁺/CD3^{dim}/CD7⁻の腫瘍細胞、およびCD4⁺/CD3⁺/CD7⁺の正常CD4陽性T細胞集団の間にCD4⁺/CD3^{dim}/CD7^{dim}という中間的なphenotypeを示す細胞集団が存在する症例が一部認められた。この集団は両者の中間的なphenotypeであることから腫瘍化の過程の中間段階の細胞集団を検出している可能性が

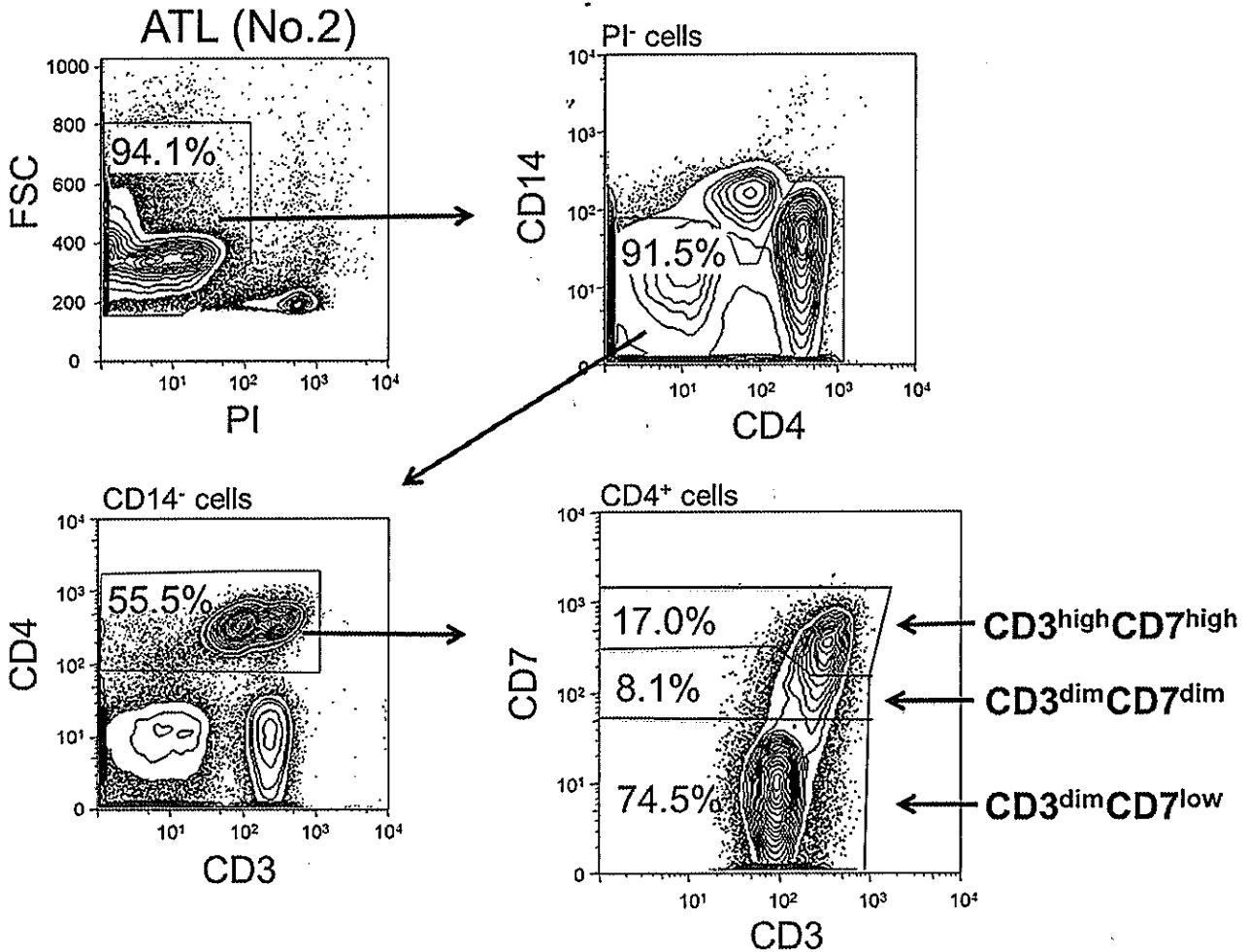


Figure 2 HAS (HTLV-1 Analysis System)-flow 法 (第 1 世代)¹²⁾

PI 陽性の死細胞をゲートアウトしたのち CD4^{dim}/CD14⁺の単球をゲートアウトし、CD3/CD4 陽性細胞にゲートをかけて CD3/CD7 の発現レベルで展開したものである。後述の CADM1 を組み込んだ HAS と区別するため第 1 世代 (first generation: 1G) と呼ぶ。

想定された。実際、各集団をソーティングして細胞形態を確認すると CD3^{dim}/CD7⁻の集団が異型性の強い典型的な ATL 細胞であり、CD3^{dim}/CD7^{dim}の集団は比較的異型性の軽い集団であった。また、無症候性キャリアから indolent ATL、aggressive ATL の各病型の ATL 症例まで末梢血を本法により解析した結果、末梢血プロウイルス量 (PVL) の少ない症例から次第に PVL が増大し、くすぶり型、慢性型、急性型と病期が進展するにつれて、CD3⁺/CD7⁺から次第に CD3^{dim}/CD7^{dim} 集団が増加し、さらに CD3^{dim}/CD7⁻へと phenotype が変化していくと考えられ、本法は HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程をモニターするのに優れた方法と考えられた¹⁴⁾。

HAS-flow 法 (1st generation) の一つの問題点は CD3⁺

/CD7⁺の集団と CD3^{dim}/CD7^{dim}の集団の分離が悪い症例が多いことであった。CADM1 (Cell Adhesion Molecule 1) は TSLC1 (Tumor Suppressor of Lung Cancer 1) とも呼ばれるがん抑制遺伝子であり、非小細胞肺癌において 1998 年 Murakami らにより最初に同定された¹⁵⁾。CADM1 は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子であり、多くの組織で発現しているが、血球細胞では赤血球に弱陽性、制御性 T 細胞で弱陽性であるが、その他には好中球、単球でわずかに発現が見られるのみで、基本的に発現していない。2005 年、宮崎大学の Morishita らは網羅的発現アレイ解析によって ATL で過剰発現している分子の一つとして CADM1 を同定した¹⁶⁾。さらに彼らは HTLV-1 キャリア末梢血中の CD4 陽性細胞

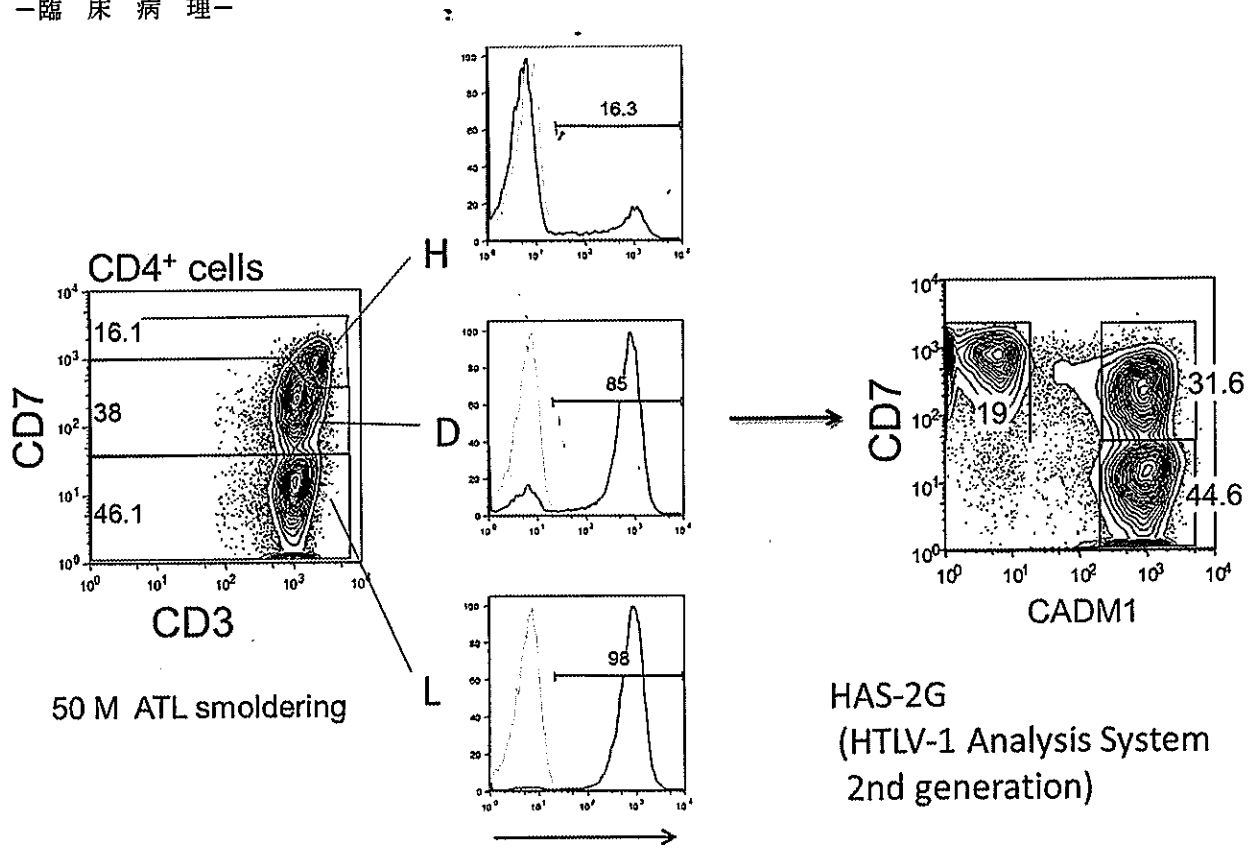


Figure 3 HAS (HTLV-1 Analysis System)-flow 法(第2世代)
HAS-flow 1G 法に CADM1 発現解析を加え、CD7/CADM1 で展開した。

中の CADM1 陽性細胞の比率が末梢血 PVL と関連することを報告した¹⁷⁾が、このことは CADM1 が HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程のかなり早期から発現することを示唆し HTLV-1 感染細胞の腫瘍化過程のモニター、ATL 腫瘍細胞の検出に有用であることが期待された。そこで HAS-flow 法(1st generation)に CADM1 の発現解析を追加し、CD4 陽性 T 細胞を CD7、CADM1 で展開したところ、CD7⁺/CADM1⁻(P)、CD7^{dim}/CADM1⁺(D)、CD7⁻/CADM1⁺(N)の3つの集団に分かれることがわかり、本法を HAS-flow 2G(2nd generation)と命名した(Fig. 3)¹⁸⁾。HAS-2G により HTLV-1 キャリアから indolent ATL、aggressive ATL の各症例の末梢血を解析すると、HTLV-1 キャリアにおいて、PVL が増加して病態が進行するにつれて P の集団から次第に D の集団が増加していき、さらに N の集団へ移行していくことがわかる(Fig. 4)¹⁸⁾。N の集団は inverse PCR、フローサイトメトリーによる TCR レパトア解析でモノクローナルに増殖している集団であることが示された。HAS-flow 2G により解析した HTLV-1 感染細胞を上記の P、D、N の3つの集団に分画して、その特徴

の解析を行った。無症候性キャリア、くすぶり型、慢性型、急性型症例、および非感染者の末梢血を HAS-flow 2G で P、D、N 分画にソーティングして遺伝子発現アレイ解析を行ってクラスタリング解析を行うと、非感染細胞とキャリア、indolent ATL の P、キャリアおよび indolent ATL の D と N、急性型 N にそれぞれクラスタリングされた¹⁸⁾。また、急性型 ATL 細胞で発現が強く抑制されていることが報告されている miR-31¹⁹⁾の発現レベルを検討すると、各病型の P 分画では抑制は見られないが、キャリアにおいても D 分画の集団は既に強くその発現が抑制されており、N の集団では急性型に匹敵する程度の強い発現抑制を示した。miR-31 の発現抑制により急性型 ATL ではポリコム複合体を構成する EZH2 の発現が亢進していると考えられるが¹⁹⁾、キャリアにおいても D、N の集団では EZH2 の発現レベルが上昇していた。さらに、急性型 ATL 細胞に見られる IKZF2(Helios)のスプライシング異常もこれらの D や N の集団で既に認められた¹⁸⁾。これらの結果から HTLV-1 感染細胞は多段階発がんの過程で、CD7⁺/CADM1⁻から CD7^{dim}/CADM1⁺の段階を経て CD7⁻

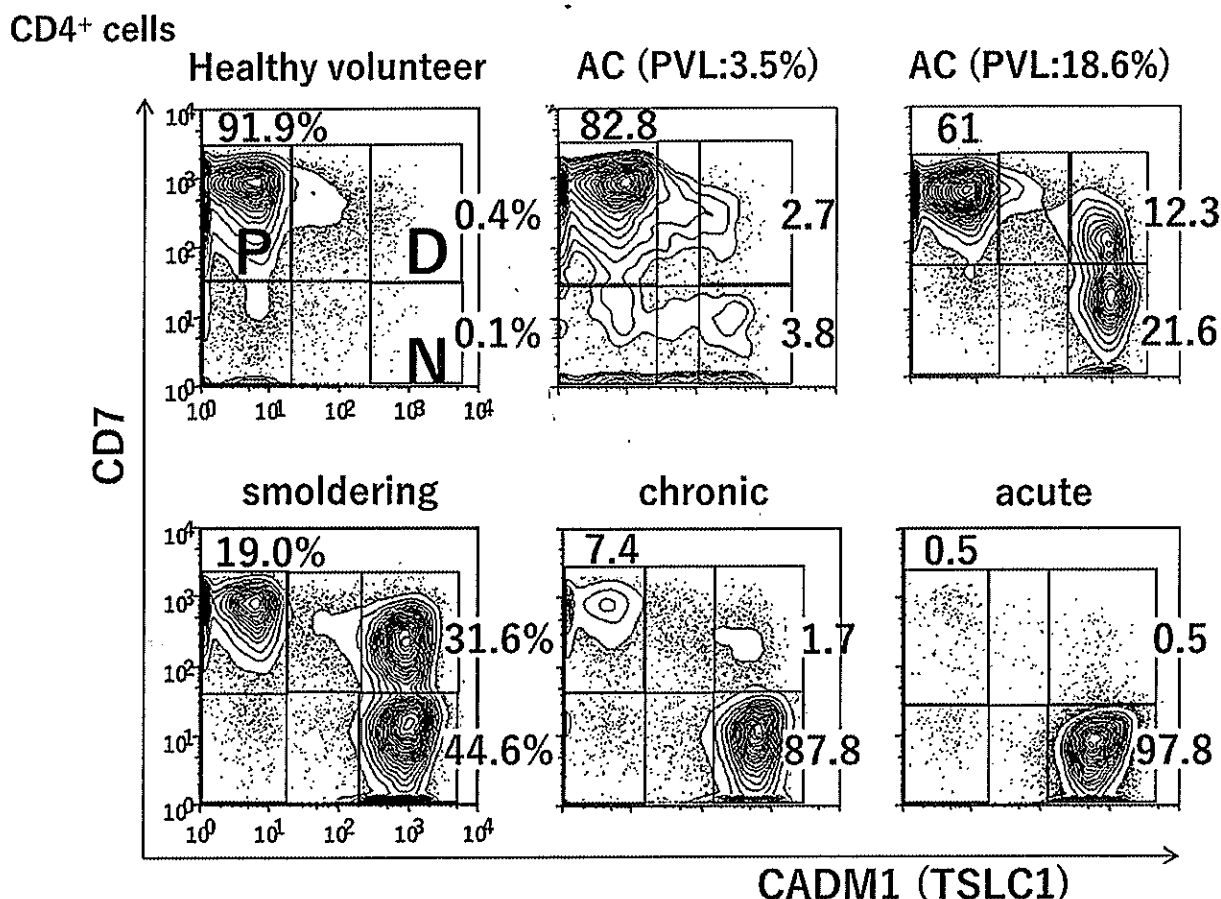


Figure 4 HAS-flow 2G による解析 (第 2 世代)

無症候性キャリアから HAS 病期の進展に伴い次第に CADM1 が陽性となり CD7 の発現レベルが低下していく。

/CADM1⁺へと phenotype を変えていくこと、CD7^{dim}/CADM1⁺の段階で既に ATL としての基本的な性格を獲得していること、これらの細胞集団は既に無症候性キャリアの段階で病態の進行に伴って末梢血中に存在すること、indolent ATL の CD7⁻/CADM1⁺の集団に最終ヒットが加わって急性型へ進展していくことが推定される。したがってキャリアの段階から末梢血中の CD4⁺/CD7^{dim}/CADM1⁺および CD4⁺/CD7⁻/CADM1⁺の集団の出現、およびその増加をモニターすることにより、HTLV-1 キャリアから ATL の発症に向けての進行を評価できると考えられる。

III. HAS-Flow の応用

HAS-flow 2G は様々な応用が考えられる。まず HAS-flow の開発にあたった当初の目的である末梢血中の腫瘍細胞を定量的に評価することにより、治療効果をより客観的に評価することに利用すること

が考えられる。現在 ATL に対して唯一根治が期待できる治療法と考えられる造血細胞移植を目指した治療方針を考えると、最近の後方視的研究によると移植までの日数が 100 日未満の症例が、100 日以上症例に比べて有意に生存率が高いことが報告されている²⁰。ATL は非常に抗がん剤耐性を獲得しやすい腫瘍であり、初回寛解導入療法中にいったん治療に反応していても再度病勢が悪化するということをししばしば経験する。したがって ATL に対して造血細胞移植を目指す方針を取る場合には、化学療法開始とともにドナーの準備を行い、ドナーの準備ができ次第、部分寛解 (PR) 以上の治療効果が得られていれば造血細胞移植を実施するという方針が必要であるが、ATL の場合患者が比較的高齢者であることもあって、血縁ドナーを得られる可能性は低い。したがって骨髄バンクを介した非血縁移植を行う症例が多くなるが、適合ドナーが得られて移植の準備に時

間がかかることもあり、その場合臍帯血などの代替ソースを用いざるを得ない。HAS-flow 2Gは治療反応性を敏感に反映するので、化学療法の治療効果をモニターし、耐性を疑わせる動きがあった場合には骨髄バンクドナーを待たずに代替ソースによる移植に切り替えていくという応用が考えられる。現在ATLに対するHLA半合致移植の安全性と有効性を検討する臨床試験も進行中であり、今後ATLに対する造血細胞移植ソースの代替ソースへの切り替えの判断は益々重要になると想定される。また、HAS-flow 2Gは微小残存病変の検出にも有用であると考えられる。骨髄移植後の末梢血をHAS-flow 2Gでモニターすると、再発例の多くで臨床的な再発の前にいったん消失していたCD7^{dim}/CADM1⁺の集団が出現しており、今後症例を重ねて、その有用性を評価することにより、血液学的再発の前に再発の兆候を感知して、早期に免疫抑制剤の減量などの介入が可能になることが期待される。

HAS-flow 2Gのパターンは無症候性キャリアからATLの発症に向けて段階的に変化して行くことから、HAS-flow 2Gのパターンにより発症過程をモニターすることが可能であるとともに、発症リスクグループの分類に有用であることが期待される。我々は74例のHTLV-1キャリア、indolent ATL症例を対象にHAS-flow 2Gによる解析を行い、これらの症例の予後を検討した。CD7^{dim}/CADM1⁺ (D)およびCD7⁻/CADM1⁺ (N)の合計が10%以下のG1、10%から25%のG2、25%から50%のG3、50%以上のG4に分類するとG1~G3グループと比較してG4グループは高度の有意差で早期に急性転化した。また、無症候性キャリアの症例のみでindolent ATLを含むATLの発症を検討するとG3+G4グループは有意に高率にATLを発症していた(論文準備中)。G3グループには下山分類上くすぶり型ATLに分類される症例と無症候性キャリアに分類される症例が混在しており、これらの症例はDおよびNの集団の比率に違いがなく、これらのD、Nの集団は上記の通り遺伝子発現なども含めて基本的に相違がないことから分子生物学的にはG3に属する症例は同一の集団とみなすのが妥当であろう²¹⁾。HTLV-1感染細胞の腫瘍化過程は典型的な多段階発がんであり、これらのG3集団を腫瘍ととらえるのかどうか、どこからを腫瘍と考えるのか、さらには、そもそも腫瘍とは何か、という問題を改めて提起していると考えられる。

HAS-flow 2Gにより検出されるDの集団は基本的にATLとしての分子生物学的異常を兼ね備えている。無症候性キャリアの段階からこれらのD、Nの集団が認められ、これらに種々の遺伝子異常、エピゲノム異常などが蓄積してaggressive ATLへと進展していくと考えられる。最近、多数例のATL細胞の解析によりATLの遺伝子異常の全貌が明らかにされた²²⁾が、HAS-flow 2Gによって抽出されるHTLV-1感染細胞の腫瘍化の中間段階の細胞の解析により、これらの異常の中で、ATLの病態形成の本質に関わる初期の異常と、腫瘍化の進展に関わる異常を区別して検討することが可能になることが期待される。またHTLV-1感染はATLという腫瘍性疾患とHTLV-1関連脊髄症(HTLV-1 associated myelopathy: HAM)という炎症性疾患を起こすが、HTLV-1感染細胞が腫瘍化に向かう初期過程を解析することにより、同じHTLV-1感染細胞が、ATLという腫瘍性疾患を発症する一方でHAMという炎症性疾患を発症する疾患発症の制御のメカニズムの解明につながることも期待される。

Disclosure

開示すべきCOIは以下の通りです。

- ・第一三共株式会社

文 献

- 1) Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, et al. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 1977; 50: 481-92.
- 2) Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, et al. Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78: 6476-80.
- 3) Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77: 7415-9.
- 4) Miyoshi I, Kubonishi I, Sumida M, et al. Characteristics of leukemic T-cell line derived from adult T-cell leukemia. *Jpn J Clin Oncol* 1979; 9: 485-94.
- 5) Seiki M, Hattori S, Hirayama Y, et al. Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA.

- Proc Natl Acad Sci U S A 1983; 80: 3618–22.
- 6) Iwanaga M, Watanabe T, Yamaguchi K. Adult T-cell leukemia: a review of epidemiological evidence. *Front Microbiol* 2012; 3: 322.
 - 7) 田島和雄, 伊藤新一郎, 伊藤瑞子, その他. 成人 T 細胞白血病(ATL)の母子感染防止に関する研究—ATL および HTLV-1 の疫学研究(予防のための研究とその戦略). 平成 2 年度厚生科学研究 1991. p.29–31.
 - 8) Nosaka K, Iwanaga M, Imaizumi Y, et al. Epidemiological and clinical features of adult T-cell leukemia-lymphoma in Japan, 2010–2011: A nationwide survey. *Cancer Sci* 2017; 108: 2478–86.
 - 9) Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, et al. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. *Blood* 2010; 116: 1369–76.
 - 10) Ishida T, Joh T, Uike N, et al. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia-lymphoma: a multicenter phase II study. *J Clin Oncol* 2012; 30: 837–42.
 - 11) Ishida T, Fujiwara H, Nosaka K, et al. Multicenter phase II study of lenalidomide in relapsed or recurrent adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL-002. *J Clin Oncol* 2016; 34: 4086–93.
 - 12) Tian Y, Kobayashi S, Ohno N, et al. Leukemic T cells are specifically enriched in a unique CD3^{dim}CD7^{low} subpopulation of CD4⁺ T cells in acute-type adult T-cell leukemia. *Cancer Sci* 2011; 102: 569–77.
 - 13) Ishigaki T, Zaike Y, Nojima M, et al. Quantification of adult T-cell leukemia/lymphoma cells using simple four-color flow cytometry. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53: 85–93.
 - 14) Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, et al. The CD3 versus CD7 plot in multicolor flow cytometry reflects progression of disease stage in patients infected with HTLV-I. *PLoS One* 2013; 8: e53728. doi:10.1371.
 - 15) Murakami Y, Nobukuni T, Tamura K, et al. Localization of tumor suppressor activity important in nonsmall cell lung carcinoma on chromosome 11q. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 8153–8.
 - 16) Sasaki H, Nishikata I, Shiraga T, et al. Overexpression of a cell adhesion molecule, TSLC1, as a possible molecular marker for acute-type adult T-cell leukemia. *Blood* 2005; 105: 1204–13.
 - 17) Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, et al. Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia* 2012; 26: 1238–46.
 - 18) Kobayashi S, Nakano K, Watanabe E, et al. 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* 2014; 20: 2851–61.
 - 19) Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, et al. Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T cell leukemia and other cancers. *Cancer Cell* 2012; 21: 121–35.
 - 20) Fuji S, Fujiwara H, Nakano N, et al. Early application of related SCT might improve clinical outcome in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51: 205–11.
 - 21) Kobayashi S, Watanabe E, Ishigaki T, et al. Advanced human T-cell leukemia virus type 1 carriers and early-stage indolent adult T-cell leukemia-lymphoma are indistinguishable based on CADM1 positivity in flow cytometry. *Cancer Sci* 2015; 106: 598–603.
 - 22) Kataoka K, Nagata Y, Kitanaka A, et al. Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nat Genet* 2015; 47: 1304–15.