

**厚生労働科学研究費補助金
第3次対がん総合戦略研究事業**

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

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 瀬戸 加大

平成25(2013)年5月

目 次

I . 総括研究報告

- ATL の腫瘍化並びに急性転化、病型変化に関連する遺伝子群の探索と病態への関与の研究 1
研究代表者 瀬戸加大

II . 分担研究報告

- 1 . 特異な末梢性 T 細胞腫瘍のゲノム異常と病態..... 13
瀬戸加大 (愛知県がんセンター研究所・遺伝子医療研究部)
- 2 . ATL のゲノム異常解析、遺伝子発現解析、遺伝子機能解析..... 19
加留部謙之輔 (愛知県がんセンター研究所・遺伝子医療研究部)
- 3 . ATL 研究のための新しい実験系の創出..... 24
都築忍 (愛知県がんセンター研究所・遺伝子医療研究部)
- 4 . TAX-specific CTL の ATLL 病変における分布の臨床病理的研究... 28
大島孝一 (久留米大学医学部・血液病理学)
- 5 . ATL の腫瘍化並びに急性転化、病型変化に関連する遺伝子群の探索と病態への関与の研究 32
宇都宮興 (慈愛会今村病院分院・血液内科)
- 6 . ATL の腫瘍化並びに急性転化、病型変化に関連する遺伝子群の探索と病態への関与の研究 36
今泉芳孝 (長崎大学病院・血液内科)

- III . 研究成果の刊行に関する一覧表 39

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
総括研究報告書（平成24年度）

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

研究代表者 瀬戸加大
愛知県がんセンター研究所 副所長 兼 遺伝子医療研究部・部長

研究要旨: HTLV-1ウイルスを起因として発症する成人T細胞性白血病リンパ腫(ATL)はウイルス感染者の2-5%が発症する。これはウイルス単独では腫瘍化せず、ウイルス感染細胞に複数のゲノム異常がさらに加わって腫瘍化することを示唆する。我々は主として臨床病型や臨床病態の異なる臨床検体を対象にATLの発症に関するこれらのゲノム異常を解析し、臨床病態や病型に関連する遺伝子異常や遺伝子発現様式を検討することで、ATLの分子病態を明らかにし、臨床的に有用なマーカー並びに腫瘍化機序について明らかにすることを目的とし研究を進めている。

ATLの遺伝子異常の解析については、急性型と慢性型ATLを対象に研究を進めた。より、正確なアレイCGHデータを得るためには検体からCD4陽性分画を精製してくることで、腫瘍分画を多く含む検体を解析した。それらを対象に、アレイCGH解析法と遺伝子発現解析法を組み合わせた検討を行い、病型により異なるゲノム異常領域並びに両者に共通する遺伝子異常を抽出した。これまでのATL研究においては、主に急性型およびリンパ腫型が検討されていたが、慢性型を多く取り入れ、そのゲノム異常を他の型と比較することでATLの病態の進展に重要な遺伝子異常を絞り込みつつある。また、慢性型で約1年7ヶ月の間に急性転化した症例を経時的に追うことができ、急性転化に関与するゲノム異常として9p21.3欠失領域を見いだした。このゲノム欠失は急性型に特徴的なゲノム変化として抽出されており、急性転化のマーカーになることが明らかとなった。これらの候補遺伝子について機能的影響を検討する予定であるが、そのための遺伝子発現誘導可能な複数のATL細胞株の作成、および初代培養T細胞に遺伝子を導入する方法を確立した。また、病理組織学的な検討として、Tax-specificなCTLの分布について検討し、FoxP3の発現の検討を進めた。その結果、Tax-specific CTL数はFoxP3陽性症例では有意に少なく、FoxP3による免疫抑制が病態に関与する可能性が示唆された。

臨床的な検討としては、HTLV-1抗体陽性でサザン解析した約10年間の症例、

1046検体のうち、病理学的検討を詳細に加えた57症例について、retrospectiveに検討した。HTLV-1キャリアにおいて、細胞病理学的に末梢性T細胞腫瘍の診断を得れば臨床的にはATLと診断される。しかし、一部の症例では、HTLV-1のキャリアに発症したATL以外とのリンパ増殖性疾患との鑑別が困難である。サザンブロット解析と血液病理専門医による病理診断を施行した症例を後方視的に解析したところ、57例中4例と稀ならず診断困難な症例を認めた。ATLの診断には、疾患単位を形成する特徴的なゲノム異常領域から責任遺伝子を見だし、より精度の高い診断方法を開発する必要がある。また、HTLV-1キャリアのALK陰性未分化大細胞リンパ腫（anaplastic large cell lymphoma: ALCL）患者の末梢血幹細胞移植治療後、1年1ヶ月を経て慢性型ATLを発症した症例のゲノム異常について解析した。症例は58歳、男性で、ALCL発症時のリンパ節、末梢血CD4陽性細胞、慢性型ATLは未治療時の末梢血CD4陽性細胞よりDNAを採取し、array CGHを用いてゲノム異常を解析した。ALCLと慢性型ATLでは、共通するゲノム異常領域があるもののゲノム異常数は、慢性型ATLの方が多かった。本症例の慢性型ATL細胞のゲノム異常では、*MDM4*、*CDK6*の存在部に増幅異常を認めており、これらの遺伝子異常が本例の細胞増殖亢進に関与している可能性がある。また、1p13.1, 10p12.1-p11.2の欠失は急性型ATLで多く認められる異常であり、急性転化に関わるゲノム異常と考えられる。本症例は、初発時にATLクローンが存在した可能性も考えられるので、T細胞受容体(TCR)のクローナリティーの検討を進めていく必要があり、興味を持たれる症例である。

ATL発症に関与する遺伝子の評価をするために昨年度は初代培養T細胞に任意の遺伝子を導入し、マウスに移植する系を確立した。本年度は本系の発癌研究への有用性を評価するために、既知のがん遺伝子Myc、Bcl2、Ccnd1を組み合わせさせてT細胞に導入し、マウスに移植した。その結果、高効率でT細胞腫瘍を作出することが可能であった。腫瘍はCD4陽性CD8陰性T細胞であったことから、本系はATLの病態解明のための有用な実験系となりうることを明らかにした。

研究分担者	所属施設名	職名
加留部謙之輔	愛知県がんセンター研究所	主任研究員
都築 忍	愛知県がんセンター研究所	室長
大島孝一	久留米大学医学部	教授
宇都宮與	慈愛会今村病院分院	院長
今泉芳孝	長崎大学病院	助教

A. 研究目的

- 1) 病型、病態の異なるATLならびに末梢T細胞リンパ腫を対象にゲノム異常および遺伝子発現を行い、病態、病型に関与するゲノム異常領域ならびにその責任遺伝子を明らかにする。
- 2) 慢性型ATLの経過中に急性転化した症

例の経時的臨床検体を用いて、急性転化に関わるゲノム異常領域ならびにその責任遺伝子を探索する。

- 3) 臨床的な ATL 関連疾患として末梢 T 細胞リンパ腫 (PTCL-NOS) 関連ならびに確定診断が困難であった症例について検討した。また、ゲノム異常を有する予後不良の PTCL-NOS の範疇に入ると考えられていたものの、異なる臨床病態を示した甲状腺原発の末梢 T 細胞リンパ腫についても検討した。
- 4) HTLV-1 の Tax の発現は、多くの ATL 細胞では低下しており、これによる Tax-specific CTL の存在の有無と ATL との関連ははっきりしていない。最近の研究より FoxP3 の発現が見られることより、抑制性 T 細胞由来と考えられているが、抑制性の機能についてはまだ確定されていない。そこで、Tax-specific CTL と FoxP3 の発現の関連を ATL のリンパ腫において免疫病理組織学的に解析した。
- 5) ATL 発症に関与する遺伝子の評価をするために昨年度は初代培養 T 細胞に任意の遺伝子を導入し、マウスに移植する系を確立していたので、具体的に遺伝子導入により、腫瘍化を検討することができるかどうかについて解析し、実験系の有用性を検討する。

B. 研究方法

- 1) 病態、病型の異なる ATL 症例を対象にゲノム異常ならびに遺伝子発現を解析し、病態、病型に関与するゲノム異常領域ならびにその責任遺伝子を明

らかにする。特に、今回は慢性型 ATL27 例を中心に解析を進めた。また、比較として 35 症例の急性型 ATL を用いた。

- 2) 慢性型 ATL 経過中に急性転化した症例を経時的に終えた症例があり、詳細にゲノム異常を比較することで急性転化に関わるゲノム異常領域を明らかにする。
- 3) 抗 HTLV-1 抗体陽性でサザン解析がなされた症例 (1046 検体) を対象に retrospective に解析を進めた。詳細な病理診断がなされている 57 例を対象に、モノクローナリティと診断名について検討した。
- 4) HTLV-1 キャリアの ALK 陰性未分化大細胞リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma: ALCL) の治療後、1 年 1 ヶ月後に慢性型 ATL として発症してきた患者検体の両者を比較することで、本症例における両疾患の関連を検討した。
- 5) これまでゲノム異常陽性 PTCL-NOS は予後不良であると報告してきたが、甲状腺原発の末梢 T 細胞リンパ腫は病態が異なるため、6 症例を集積して、ゲノム異常解析ならびに臨床病態を解析した。
- 6) ATL の病理組織学的な検討として、Tax-specific な CTL の分布について検討し、FoxP3 の発現の検討を進めた。
- 7) ATL 発症に関与する遺伝子の評価をするために初代培養 T 細胞に任意の遺伝子を導入し、マウスに移植する系を確

立していたが、実際に、既知のがん遺伝子 Myc、Bcl2、Ccnd1 を組み合わせて T 細胞に導入し、マウスに移植し、実験系の有用性を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、愛知県がんセンターヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の倫理委員会の承認を得ている。また遺伝子組換え実験に関しては愛知県がんセンター遺伝子組換え実験等安全委員会の承認を、動物実験においては動物委員会の審査・承認を得て行った。

C. 研究結果

1) 病型の異なる ATL のゲノム異常解析

慢性型 27 例と急性型 35 例のゲノム異常様式は、両者に共通する部分と急性型に特徴的な領域があるが、急性型にはなく、慢性型に認められる特徴的な領域は無かった (図 1)。すなわち、急性型と慢性型は連続した疾患の病態変化としてとらえられるのかもしれないことが示唆された。

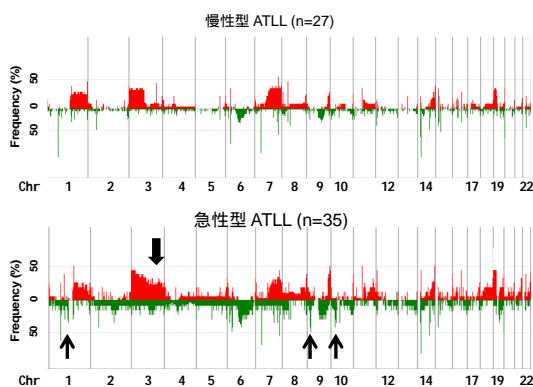


図 1. 慢性型と急性型 ATL のゲノム異常領域の頻度の比較。矢印は急性型に特徴的な領域を示す。

2) 慢性型 ATL の経過中に急性転化した症例の経時的ゲノム異常変化

慢性型 ATL の 1 年 7 ヶ月の経過中に急性転化した症例について、経時的な検体を解析することができた。この検体は同じクローン由来であることが他のゲノム異常領域の比較により明らかとなっており、慢性期には 9p21.3 領域に異常は認められなかったものの、急性転化 3 ヶ月前には異常が出現し、急性転化時にはホモ欠失となったことが明らかとなった。すなわち、急性転化に 9p21.3 欠失が関与することを示唆している (図 2)

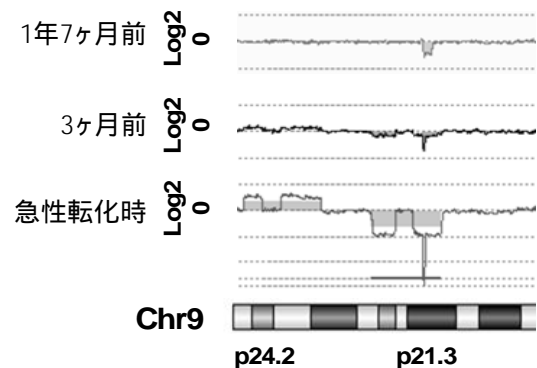


図 2. 急性転化を起こした慢性型症例の 9p21.3 領域の経時的変化

この領域に存在する責任遺伝子は *CDKN2A* と *CDKN2B* であるが、機能的検討により、*CDKN2A* がコードするタンパクのうち INK4a であることが明らかとなっている。また、この領域の欠失は急性型 ATL35 症例のうち 10 症例であり、急性型 ATL を特徴づけるゲノム異常であった。

3) HTLV-1 キャリアに発症した末梢性 T 細胞腫瘍の解析

HTLV-1 キャリアにおいて、細胞病理学的に末梢性 T 細胞腫瘍の診断を得れば臨床的には ATL と診断されている。しかし、HTLV-1 のキャリアに発症した ATL 以外のリンパ増殖性疾患との鑑別が困難である。

そこで、サザンプロット解析が行われた1046検体のうち、血液病理専門医による病理診断を施行した57例症例を後方視的に解析したところ、57例中4例と稀ならず診断困難な症例を認めた。また、HTLV-1のモノクローナルなバンドを認めたのは44例であり、モノクローナルなバンドを認めなかった症例は13例であった。モノクローナルバンドを認めず、病理組織学的にもATLと言う診断が困難だった症例の転帰は3例がATLとして発症している。

4) ALCL と診断され、治療後に慢性型 ATL を発症した症例の解析

HTLV-1 キャリアに発症した ALCL のリンパ節検体と末梢血検体ならびに1年1ヶ月後に発症した慢性型 ATL の末梢血検体を400K アレイで検討したところ、共通するポリモルフィズム(CNV: コピー数異常領域)があり、同一人由来であることが確認できている。ALCL リンパ節検体と治療後に発症した慢性型 ATL では、明らかにゲノム異常領域が異なっていた。ALCL で認める7, 17番染色体のgain異常は少し様式が異なるものの慢性型 ATL でも認める異常部位であった。慢性型 ATL のゲノム異常として1q増幅、7q21増幅、1p13.1欠失、10p12.1-p11.2欠失が認められた。

5) 甲状腺原発の PTCL-NOS の解析

甲状腺原発の PTCL-NOS、6 症例を集積し解析した。臨床的には indolent な経過をたどり、時に自然寛解を示す。マーカーは CD3、CD4、CXCR3 陽性で Th1 由来であることが示唆された。ゲノム異常様式としては、ATL によく似た病態を取る

PTCL-NOS のゲノム異常様式とは異なるゲノム異常を示した。6 症例のうち 4 例と最も高頻度に認めたゲノム異常領域は 6q23-qter であり、中でも、6q24.2 が共通最小欠失領域であった。そこには、STX11 と UTRN 遺伝子が存在していた。

6) ATL の病理組織学的な検討

Tax-specific な CTL の分布について検討し、FoxP3 の発現との関連を解析した。症例では、ATL のリンパ節病変内には Tax-specific CTL が認められた。また、Tax-specific CTL 数は、形態との関連はみられなかったが、FOX p3 陽性の症例では優位に低い傾向がみられた。

7) ATL 発症に関与する遺伝子の評価実験系の確立

Bcl2+Myc を発現させた T 細胞を移植したマウスの半数は 120 日以内に死亡し、Bcl2、Myc、Ccnd1 を共に発現させた T 細胞を移植したマウスは全例が 50 日以内に死亡した。コントロールとして GFP 単独またはヒト CD4 単独で発現させた T 細胞を移植したマウスは無病であった。病態はリンパ節、脾臓、胸腺などの肥大をきたし、病理組織学的にもリンパ性白血病/リンパ腫の所見であった。Bcl2、Myc、Ccnd1 を共に発現させた T 細胞を移植したマウスに発生した腫瘍は GFP 陽性かつヒト CD4 陽性であったことから、Bcl2、Myc、Ccnd1 の 3 者が協調して腫瘍化に至ったと考えられた。Bcl2、Myc による腫瘍も含め、本実験系の腫瘍表現型はすべて CD4+ であり、ATL との表現型と同じであった。

D. 考察

1) 病型の異なる ATL のゲノム異常解析

ATL の網羅的なゲノム解析を行い、慢性型 ATL の遺伝子異常の特徴を把握しつつある。特に急性型 ATL、およびリンパ腫型 ATL との比較により、病勢の進行に重要な役割を果たす遺伝子を抽出することができつつある。特に、9p21.3 領域欠失は慢性型の急性転化に伴って出現した異常であるばかりでなく、急性型に特徴的なゲノム異常である。この遺伝子は急性型を決定するのに重要な役割を担っていることが示唆された。同様に、現在検討中の 1p13.1、9p21.3、10p11-p12 の欠失ならびに 3q の増幅が急性型に特徴的であるので、これらの責任遺伝子も急性転化に関与する可能性が有り、今後の解析が急務である。これらは遺伝子発現解析を同時に関連させて検討し、責任遺伝子を追求する必要がある。

候補遺伝子を抽出したのちは、遺伝子導入による機能的解析を行うが、今回の実験により、高率に遺伝子発現を誘導できる株を作成に成功した。また、複数の ATL の細胞株においても同様に成功しており、これらを用いた機能解析が可能な状態となっている。

また、慢性型と急性型に共通するゲノム異常領域も大変興味深い領域であり、これらは ATL 発症の比較的早期から腫瘍化に関与する遺伝子を含んでいるのかもしれない。これらについても遺伝子発現の結果と関連させながら責任遺伝子を追求していく必要がある。

2) 慢性型 ATL の経過中に急性転化した症例の経時的ゲノム異常変化

慢性型 ATL の急性転化症例を経時的に

追求できたことにより、きわめて重要な情報を得ることができた。特に、9p21.3 領域欠失は慢性型の急性転化に伴って出現した異常であるばかりでなく、急性型に特徴的なゲノム異常である。この遺伝子は急性型を決定するのに重要な役割を担っていることが示唆された。同様に、慢性型には認められず、急性型に特徴的なゲノム異常領域の 1p13.1、9p21.3、10p11-p12 の欠失ならびに 3q 増幅は、同様に急性転化に関与する可能性が有り、責任遺伝子の探索を含め、今後の解析が急務である。これらの領域は遺伝子発現解析を同時に関連させて検討し、責任遺伝子を追求する必要がある。

3) HTLV-1 キャリアに発症した末梢性 T 細胞腫瘍の解析

サザン解析で HTLV-1 ウイルスのモノクローナルバンドを認めず、病理学的にも ATL との鑑別が困難な症例を 57 例中 4 症例認めた。これらの症例は、比較的長期間生存し、ATL としては非典型的な臨床経過であった。この中には、非典型的な ATL 症例と、HTLV-1 キャリアに発症した ATL 以外のリンパ腫症例が含まれている可能性がある。ATL に対して、近年、同種造血幹細胞移植や抗体医薬などの有用性が報告されており、適切な診断に基づく治療方針の選択が必要であり、これらの境界領域の理解が必要である。

4) ALCL と診断され、治療後に慢性型 ATL を発症した症例の解析

ALCL 発症時の末梢血検体ではゲノム異常はみられず、末梢血中には ALCL の異常細胞や ATL 細胞は存在していないと考えられる。しかし、ALCL のリンパ節検体で

は、ALK 陰性 ALCL に特徴的とされる部のゲノム異常はみられなかったが、ALCL として多く認められる異常部位である 7q, 17q12-21 部のゲノム増幅異常を認めた。本例の慢性型 ATL 期の CD4 陽性細胞では、*MDM4* (1q23.3), *CDK6* (7q22.1) が存在する部にゲノム増幅異常を認めており、これらの遺伝子は、cell cycle の正の regulator として知られている。本例の病態においてもその細胞増殖亢進にこれらの遺伝子が関与している可能性がある。また、1p13.1 及び 10p12.1-p11.2 の欠失は急性型 ATL で多く認められるゲノム異常部位であり、同部の異常は急性転化に関わる部と考えられている。実際、本症例は、慢性型 ATL 発症後早期に中枢神経浸潤をきたし、急性転化をきたしており、これらのゲノム異常の所見と臨床経過の関連性が強く示唆された。

5) 甲状腺原発の PTCL-NOS の解析

今回検討したすべての症例にゲノム異常が存在した。臨床病態的に先行する自己免疫性甲状腺炎が存在し、マーカー CD3, CD4, CXCR3 がすべての症例で陽性であり、新たな疾患単位を形成する可能性が示唆された。それは、甲状腺炎を背景とし発症する比較的予後のよい Th1 由来の T 細胞性リンパ腫であり、経過中に自然寛解を示す点が特徴的である。これまで、ゲノム異常が存在する PTCL-NOS はリンパ腫型 ATL に近いと報告してきたが、甲状腺原発の PTCL-NOS は、従来の PTCL-NOS から区別しなければならない。実際、ゲノム異常様式は異なるので、同一の範疇ではないと考えてよいと思われる。6q24.2 最小共通ゲノム欠失領域の責任遺伝子は STX11 と UTRN であるが、これ

らの遺伝子がどの様に腫瘍化に関わるかについては今後検討を進めていく必要がある。

6) ATL の病理組織学的な検討

ATL の発症においては、HTLV-I の Tax の発現が感染細胞の腫瘍化において、アポトーシスの抑制、細胞増殖を介して重要であると、従来考えられていたが、Tax の発現は、多くの ATL 細胞では低下しており、これによる Tax-specific CTL の存在の有無と ATL との関連ははっきりしていない。また、ATL の由来は、CD4+CD25+ T 細胞と考えられていたが、最近の研究より FoxP3 の発現が見られるので、抑制性 T 細胞由来と考えられているが、抑制性の機能についてはまだ確定されていなかった。今回の研究により、ATL のリンパ節病変内には Tax-specific CTL が認められ、また、Tax-specific CTL 数は、形態との関連はみられなかったが、FoxP3 陽性の症例では優位に低い傾向がみられたことより、FoxP3 による免疫抑制の関与が考えられた。

7) ATL 発症に関与する遺伝子の評価実験系の確立

本研究により、初代培養マウス T 細胞に既知がん遺伝子を導入することにより再現性よく高効率に T 細胞性腫瘍が発生した。発生した腫瘍は CD4 陽性 CD8 陰性細胞であることから、本システムは ATL 研究に有用であることが期待される。導入遺伝子と同時に GFP やヒト CD4 をマーカーとして発現させているためマウス生体内での細胞追跡が可能である。現在、Kusabira オレンジやヒト CD8 などのマーカーも使用できるように改良しており、

T細胞に種々の遺伝子を同時に導入して、その協調作用を解析することも可能となっている。今後は、HTLV1 ウイルスの主要ながん遺伝子である Tax や HBZ を T細胞に導入し、さらにゲノム解析などで見出した付加的遺伝子異常を同細胞に再現することで ATL の成立、進展機構を解析していくことが重要である。

E. 結論

1. 慢性型と急性型 ATL ゲノム異常様式を比較することにより、病勢の進行に重要な役割を果たす遺伝子を抽出することができつつある。特に、1p13.1、9p21.3、10p11-p12 の欠失ならびに 3q の増幅が急性型に特徴的であるので、これらの責任遺伝子も急性転化に関与する可能性があり、今後の解析が急務である。

2. 慢性型 ATL の経過中に急性転化した症例の経時的ゲノム異常変化を追うことにより、9p21.3 欠失が急性転化に関与していることが明らかとなった。この領域は急性型 ATL に特徴的なゲノム異常であり、他の急性型 ATL に特徴的なゲノム異常領域も急性転化マーカーになることが強く示唆された。

3. ATL のゲノム異常を対象とした本研究グループの解析結果により、ゲノム解析によって ATL の疾患特異的な遺伝子異常が同定し、診断に有用な分子マーカーが開発する必要がある。ゲノム解析を推進するために、検体の収集を継続するとともに、臨床病態の解析を進めていく。

4. ALCL と診断され、治療 1 年 1 ヶ月後

に慢性型 ATL を発症した症例を解析したところ慢性型 ATL の腫瘍細胞に急性型 ATL で多く認められるゲノム異常 1p13.1 及び 10p12.1-p11.2 の欠失があり、この症例は慢性型 ATL 発症後早期に中枢神経浸潤をきたし、急性転化をきたしている。すなわち、これらのゲノム異常は臨床的マーカーとして有用であることが強く示唆された。

5. 甲状腺原発の PTCL-NOS は先行する自己免疫性甲状腺炎が存在し、CD3、CD4、CXCR3 が検索したすべての症例で陽性であり、新たな疾患単位を形成する可能性が示唆された。臨床的には比較的予後のよい Th1 由来の T 細胞性リンパ腫であり、経過中に自然寛解を示すことが特徴である。

6. ATLL のリンパ節病変内には Tax-specific CTL が認められ、また、Tax-specific CTL 数は、FOX p3 陽性の症例では優位に低い傾向がみられた。

7. マウス初代培養未分化造血細胞から誘導した T 細胞に Myc, Bcl2, Ccnd1 を組み合わせることで遺伝子導入することにより効率よく T 細胞性腫瘍を誘導でき、発生した腫瘍は CD4 陽性 CD8 陰性であり、ATL 類似の表現型を示した。また、遺伝子導入した細胞には GFP やヒト CD4 を共発現させることでマウス体内での追跡が可能であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Kato H, Yamamoto K, Oki Y, Ine S, Taji H, Chihara D, Kagami Y, Seto M, Morishima Y.: Clinical value of flow cytometric immunophenotypic analysis for minimal residual disease detection in autologous stem-cell products of follicular and mantle cell lymphomas. *Leukemia*, 26: 166-169, 2012.
2. Chihara D, Matsuo K, Kanda J, Hosono S, Ito H, Nakamura S, Seto M, Morishima Y, Tajima K, Tanaka, H.: Inverse association between soy intake and non-Hodgkin lymphoma risk among women: a case-control study in Japan. *Ann Oncol.*, 23: 1061-1066, 2012.
3. Liu F, Karube K, Kato H, Arita K, Yoshida N, Yamamoto K, Tsuzuki S, Kim W, Ko Y-H, Seto M.: Mutation analysis of NF- κ B signal pathway-related genes in ocular MALT lymphoma. *Int J Clin Exp.*, 5: 436-441, 2012.
4. Yoshida N, Umino A, Liu F, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M: Identification of multiple subclones in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified with genomic aberrations. *Cancer Medicine*, 1: 289-294, 2012.
5. Liu F, Yoshida N, Suguro M, Kato H, Karube K, Arita K, Yamamoto K, Tsuzuki S, Ohshima K Seto M: Clonal heterogeneity of mantle cell lymphoma revealed by array comparative genomic hybridization. *The European Journal of Haematology*, 90: 51-58, 2012.
6. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Liu F, Kondo E, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M. Lineage-specific growth inhibition of NK cell lines by FOXO3 in association with Akt activation status. *Exp Hematol*, 40: 1005-1015, 2012.
7. Hikino S, Ohga S, Kinjo T, Kusuda T, Ochiai M, Inoue H, Honjo S, Ihara K, Ohshima K, Hara T. : Tracheal aspirate gene expression in preterm newborns and development of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Int*, 54: 208-214, 2012.
8. Kiyasu J, Aoki R, Tanaka PY, Pracchia LF, Calore EE, Perez NM, Kimura Y, Niino D, Sugita Y, Takayanagi R, Abe Y, Matsuoka M, Ohshima K.: FOXP3(+) regulatory and TIA-1(+) cytotoxic T lymphocytes in HIV-associated Hodgkin lymphoma. *Pathol Int*, 62: 77-83, 2012.
9. Pongpruttipan T, Kummalue T, Bedavanija A, Khuhapinant A, Ohshima K Arakawa F, Niino D, Sukpanichnant S.: Aberrant antigenic expression in extranodal NK/T-cell lymphoma: a multi-parameter study from Thailand. *Diagn Pathol*, 6:79, 2012.
10. Sugata K, Satou Y, Yasunaga J, Hara H, Ohshima K, Utsunomiya A,

- Mitsuyama M, Matsuoka M.: HTLV-1 bZIP factor impairs cell-mediated immunity by suppressing production of Th1 cytokines. *Blood*, 119: 434-444, 2012.
11. Hirose Y, Kaida H, Ishibashi M, Uozumi J, Arikawa S, Kurata S, Hayabuchi N, Nakahara K, Ohshima K.: Comparison between endoscopic macroscopic classification and F-18 FDG PET findings in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma patients. *Clin Nucl Med*, 37: 152-157, 2012.
 12. Yoshida S, Arakawa F, Higuchi F, Ishibashi Y, Goto M, Sugita Y, Nomura Y, Niino D, Shimizu K, Aoki R, Hashikawa K, Kimura Y, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Nagata K, Ohshima K.: Gene expression analysis of rheumatoid arthritis synovial lining regions by cDNA microarray combined with laser microdissection: up-regulation of inflammation-associated STAT1, IRF1, CXCL9, CXCL10, and CCL5. *Scand J Rheumatol*, 41: 170-179, 2012.
 13. Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikuta A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S.: EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood*, 119: 673-686, 2012.
 14. Shimizu-Kohno K, Kimura Y, Kiyasu J, Miyoshi H, Yoshida M, Ichikawa R, Niino D, Ohshima K.: Malignant lymphoma of the spleen in Japan: A clinicopathological analysis of 115 cases. *Pathol Int*, 62: 577-582, 2012.
 15. Kannagi M, Hasegawa A, Takamori A, Kinpara S, Utsunomiya A.: The roles of acquired and innate immunity in human T-cell leukemia virus type 1-mediated diseases. *Frontiers in Microbiology*, 3: 1-10, 2012.
 16. Higashi Y, Kawai K, Yonekura K, Takeda K, Kanzaki T, Utsunomiya A, Kanekura K.: Indication for random skin biopsy for the diagnosis of intravascular large B cell lymphoma. *Dermatology*, 224: 46-50, 2012.
 17. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A.: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study. *Blood*, 120: 1734-1741, 2012.
 18. Satou Y, Utsunomiya A, Tanabe J, Nakagawa M, Nosaka K, Matsuoka M.: HTLV-1 modulates the frequency and phenotype of FoxP3+CD4+ T cells in the HTLV-1 infected individuals.

- Retrovirology, 9: 46, 2012.
19. Fukuda RI, Tsuchiya K, Suzuki K, Itoh K, Fujita J, Utsunomiya A, Tsuji T.: HTLV-I Tax regulates the cellular proliferation through the down-regulation of PIP3-phosphatase expressions via the NF- κ B pathway. *Int J Biochem Mol Biol*, 3: 95-104, 2012.
 20. Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Yamashita K, Tsukasaki K, Suzushima H, Ohno Y, Matsuoka H, Jo T, Suzumiya J, Tamura K.: Prognostic index for acute- and lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *J Clin Oncol*, 30: 1635-1640, 2012.
 21. Nishikawa H, Maeda Y, Ishida T, Gnjjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S.: Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 119: 3097-3104, 2012.
 22. Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fuzjiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R.: Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia- lymphoma: a multicenter Phase II study. *J Clin Oncol*, 30: 837-842, 2012.
 23. Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kuosawa G, Morishita K.: Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia*, 26: 1238-1246, 2012.
 24. Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T.: Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood*, 119: 2141-2148, 2012.
 25. Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Ogawa S, Watanabe T.: Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers. *Cancer Cell*, 21:

- 121-135, 2012.
26. Tsuzuki S, Seto M.: TEL(ETV6)-AML1(RUNX1) Initiates Self-renewing Fetal Pro-B Cells in Association with a Transcriptional Program Shared with Embryonic Stem Cells in Mice. *Stem Cells*, 31: 236-247. 2013.
 27. Umino A, Seto M.: Array CGH Reveals Clonal Evolution of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *Methods Mol Biol*. 973: 189-96. 2013.
 28. Yoshioka S, Tsukamoto Y, Hijiya N, Nakada C, Uchida T, Matsuura K, Takeuchi I, Seto M, Kawano K, Moriyama M.: Genomic profiling of oral squamous cell carcinoma by array-based comparative genomic hybridization. *PLoS One*. 8: e56165. 2013.
 29. Seto M.: Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma. *Blood*, 121: 1249-1250. 2013.
 30. Taguchi O, Tsujimura K, Kontani K, Harada Y, Nomura S, Ikeda H, Morita A, Sugiura H, Hayashi N, Yatabe Y, Seto M, Tatematsu M, Takahashi T, Fukushima A.: Behavior of Bone Marrow-Derived Cells Following in Vivo Transplantation: Differentiation into Stromal Cells with Roles in Organ Maintenance. *Am J Pathol*. 182: 1255-1262. 2013.
 31. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko Y-H, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. *Cancer Letter*, 333: 47-55. 2013.
 32. Yoshida N, Nishikori M, Izumi T, Imaizumi Y, Sawayama Y, Niino D, Tashima M, Hoshi S, Ohshima K, Shimoyama M, Seto M, Tsukasaki K.: Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise: specified of the thyroid with autoimmune thyroiditis. *Br J Haematol*. 161: 214-223. 2013.
 33. Itonaga H, Taguchi J, Fukushima T, Tsushima H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Honda S, Miyazaki Y.: Distinct clinical features of infectious complications in adult T-cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis in the Nagasaki Transplant Group. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013 Jan 17. [Epub ahead of print]
 34. Itonaga H, Tsushima H, Taguchi J, Fukushima T, Taniguchi H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Uike N, Miyazaki Y.: Treatment of relapsed adult T-cell leukemia/lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the Nagasaki Transplant Group experience. *Blood*, 121: 219-225, 2013.
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
- なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

特異な末梢性 T 細胞腫瘍のゲノム異常と病態

研究分担者 瀬戸 加大

愛知県がんセンター研究所、副所長 兼 遺伝子医療研究部・部長

研究要旨

我々はこれまでに、末梢性 T 細胞リンパ腫分類不能型 (PTCL-NOS) のゲノム異常を有する群はリンパ腫型 ATLL とゲノム異常様式がよく似ていることを報告し、病態や予後もよく似ており、HTLV-1 ウイルスの情報がなければ両者は区別が困難であり、同一の疾患群に属している可能性を報告してきた。PTCL-NOS と分類しうるものの中で、ゲノム異常を有しながらも特殊な臨床病態を呈する甲状腺原発末梢性 T 細胞リンパ腫を解析し、独立した新しい疾患単位として認識しうる可能性を示した。その特徴は、甲状腺炎の既往があり、ゆっくりとした臨床経過をたどる予後良好な末梢性 T 細胞腫瘍であることが明らかとなった。また、特徴的なこととして、6q24.2 に共通してゲノム欠失を認め（6 症例中 4 例）経過の途中に自然寛解を示す。これらの特徴は、新たな疾患単位を形成すると考えるに足る証拠であるが、今後、他の T 細胞リンパ腫との関連も考察する必要がある。

A. 研究目的

ゲノム異常を有する末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL-NOS) は、成人 T 細胞白血病/リンパ腫とよく似ていることを報告してきた。今回、甲状腺原発の PTCL-NOS を対象に、その病態とゲノム異常を解析した。

B. 研究方法

甲状腺原発の T 細胞性リンパ腫 6 症例を集積し、病理組織学的検討、臨床病態的検討とともに、ゲノム異常ならびに遺伝子発現も解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は愛知県がんセンターのヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会の承認を得ている。患者検体は対応する共同研究機関で IC を得た上で採取し、匿名化した上で愛知県がんセンターに送付された。

C. 研究結果

1. 臨床病態学的特徴

6 名は 2002 年から 2011 年の間に診断され。特徴としては、甲状腺腫大であり、病理診断のために、5 例は部分切

除をうけ、残り 1 症例は針生検をうけた。部分切除後 2 症例は自然消退を示した。残りの 4 症例は化学療法を受けた。これらの症例は indolent な経過をたどり、中間年齢は 65 歳であった (51-83 歳)。6 例中 4 例は頸部リンパ節腫大を認めたが、他のリンパ節腫大は認めなかった。3 症例は流血中に腫瘍細胞を認め、白血化していた。2 例は骨髄に腫瘍細胞を認めた。3 症例は Stage IV、のこり 3 症例は Stage IIE であった。1 例のみ、急激な転帰をたどり、5 ヶ月で死亡したが、他の 5 症例はすべて生存している。うち 3 例は 70 ヶ月を超えて生存中である。

2. 病理形態学的、免疫組織学的特徴

細胞の大きさは小型から中型で、4 症例に lymphoepithelioid 変化が認められる。マーカーはすべての症例で CD3、CD4、CXCR3 が陽性であり、Th1 細胞由来である。また、これらのリンパ腫は先行する甲状腺炎が特徴的である。6 症例中 4 症例には自己免疫性甲状腺炎の既往があり、5 症例には抗 Thyroglobulin 抗体、抗甲状腺ペルオキシダーゼ抗体が陽性であった。これらの抗体が認められない残る一例には高い Thyroid stimulating hormone (TSH) が認められ、甲状腺機能低下症が示唆されている。すなわち、すべての症例で何らかの形で自己免疫性甲状腺炎を疑わせる所見が存在し、それを背景として出現する T 細胞性リンパ腫であることが示唆された。

3. ゲノム異常と遺伝子発現の解析

各患者にまたがるゲノム異常領域が認められたが、これまでに報告した PTCL-NOS のゲノム異常と比較し、特に、4p16.3、4p17、8q24.3、9q33.3、17q25.3、19 短腕の増幅と 6q23-qter の欠失が特徴的であった (図 1)。急激な転帰をとった 1 症例は 9p21 のホモ欠失があり、*CDKN2A/CDKN2B* の欠失により急激な転帰をとったものと思われる。しかし、この症例も、ゲノム異常様式では他の症例とよく似た異常様式を示しているため、甲状腺炎関連 T 細胞リンパ腫という範疇に含めることができる。

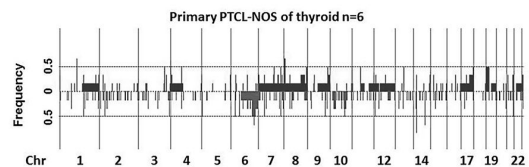


図 1. 甲状腺炎関連 T 細胞リンパ腫のゲノム異常様式

4. 6q24.2 欠失領域の責任遺伝子

今回検討したすべての症例にゲノム異常が存在した。特に、6q23-qter 領域は 6 症例中 4 症例に認められ、そのうちの 1 例は 6q24.2 のきわめて狭い領域に異常を示し、この領域に責任遺伝子が含まれていると考えられた (図 2)。その最小共通欠失領域には、*STX11* と *UTRN* 遺伝子が含まれており、これらのいずれか、あるいは両方が本リンパ腫に関連する重要な遺伝子である可能性が示唆された。

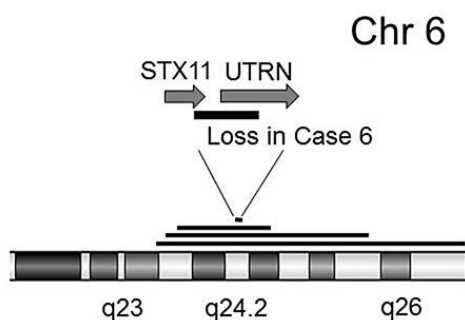


図 2. 6q24.2 領域の最小共通欠失領域

D. 考察

今回検討したすべての症例にゲノム異常が存在した。臨床病態的に先行する自己免疫性甲状腺炎が存在し、マーカー CD3, CD4, CXCR3 がすべての症例で陽性であり、新たな疾患単位を形成する可能性が示唆された。それは、甲状腺炎を背景とし発症する比較的予後のよい Th1 由来の T 細胞性リンパ腫であり、経過中に自然寛解を示す点が特徴的である。

ゲノム異常としては、ATL に近い PTCL-NOS とは異なる特徴的なゲノム異常様式を示すことも、従来の PTCL-NOS から区別して判断しなければならない根拠となる。

6q24.2 最小共通ゲノム欠失領域の責任遺伝子は STX11 と UTRN であるが、これらの遺伝子がどのように腫瘍化に関わるかについては今後検討を進めていく必要が有る。

E. 結論

1. これまで報告してきた ATL とよく似た病態を示すゲノム異常を有する末梢性 T 細胞リンパ腫分類不能型 (PTCL-NOS) の中に、これらとは異なる甲状腺原発の新しい末梢性 T 細胞リンパ腫が存在することを見いだした。

2. 臨床病態学的特徴は自己免疫性甲状腺炎を背景に出現する可能性が強いことと、マーカー上は CD3、CD4、CXCR3 陽性で Th1 由来の腫瘍であり、lymphoepithelioid 病変を有すること、また、経過中に自然寛解を示す症例があり、indolent な経過をたどることが多い。

3. 6q23-qter の欠失が高頻度に認められ、6q24.2 最小共通ゲノム欠失領域の責任遺伝子は STX11 と UTRN であることが明らかとなった。腫瘍化や病態にどのように関与するかは今後の問題である。

4. 6 症例中 1 例は急激な転帰をたどったが、これは 9p21.1 の欠失による急性転化を引き起こしたと考えられる。すなわち、indolent な経過を呈するとはいえず、注意深い観察が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato H, Yamamoto K, Oki Y, Ine S, Tajiri H, Chihara D, Kagami Y, Seto M, Morishima Y.: Clinical value of flow cytometric immunophenotypic analysis for minimal residual

- disease detection in autologous stem-cell products of follicular and mantle cell lymphomas. *Leukemia*, 26: 166-169, 2012.
2. Chihara D, Matsuo K, Kanda J, Hosono S, Ito H, Nakamura S, Seto M, Morishima Y, Tajima K, Tanaka, H.: Inverse association between soy intake and non-Hodgkin lymphoma risk among women: a case-control study in Japan. *Ann Oncol.*, 23: 1061-1066, 2012.
 3. Liu F, Karube K, Kato H, Arita K, Yoshida N, Yamamoto K, Tsuzuki S, Kim W, Ko Y-H, Seto M.: Mutation analysis of NF- κ B signal pathway-related genes in ocular MALT lymphoma. *Int J Clin Exp.*, 5: 436-441, 2012.
 4. Yoshida N, Umino A, Liu F, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M: Identification of multiple subclones in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified with genomic aberrations. *Cancer Medicine*, 1: 289-294, 2012.
 5. Liu F, Yoshida N, Suguro M, Kato H, Karube K, Arita K, Yamamoto K, Tsuzuki S, Ohshima K Seto M: Clonal heterogeneity of mantle cell lymphoma revealed by array comparative genomic hybridization. *The European Journal of Haematology*, 90: 51-58, 2012.
 6. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Liu F, Kondo E, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M. Lineage-specific growth inhibition of NK cell lines by FOXO3 in association with Akt activation status. *Exp Hematol*, 40: 1005-1015, 2012.
 7. Tsuzuki S, Seto M. TEL(ETV6)-AML1(RUNX1) Initiates Self-renewing Fetal Pro-B Cells in Association with a Transcriptional Program Shared with Embryonic Stem Cells in Mice. *Stem Cells*, 31: 236-247. 2013.
 8. Umino A, Seto M.: Array CGH Reveals Clonal Evolution of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *Methods Mol Biol.* 973: 189-96. 2013.
 9. Yoshioka S, Tsukamoto Y, Hijiya N, Nakada C, Uchida T, Matsuura K, Takeuchi I, Seto M, Kawano K, Moriyama M.: Genomic profiling of oral squamous cell carcinoma by array-based comparative genomic hybridization. *PLoS One.* 8: e56165. 2013.
 10. Seto M.: Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma. *Blood*, 121: 1249-1250. 2013.
 11. Taguchi O, Tsujimura K, Kontani K, Harada Y, Nomura S, Ikeda H, Morita A, Sugiura H, Hayashi N, Yatabe Y, Seto M, Tatematsu M, Takahashi T, Fukushima A.: Behavior of Bone Marrow-Derived Cells Following in

Vivo

Transplantation: Differentiation into Stromal Cells with Roles in Organ Maintenance. *Am J Pathol.* 182: 1255-1262. 2013.

12. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko Y-H, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. *Cancer Letter*, 333: 47-55. 2013.
13. Yoshida N, Nishikori M, Izumi T, Imaizumi Y, Sawayama Y, Niino D, Tashima M, Hoshi S, Ohshima K, Shimoyama M, Seto M, Tsukasaki K.: Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise: specified of the thyroid with autoimmune thyroiditis. *Br J Haematol.* 161: 214-223. 2013.

2. 学会発表

1. Karube, K., Seto, M.: Genomic and functional analyses of NK-cell neoplasms. 4th T cell lymphoma forum, 2011, サンフランシスコ(米国), [口演] 2012.1.26
2. 瀬戸 加大: Genomic alterations in malignant lymphoma and its implication in cancer treatment. The 38th Annual Meeting of Korean Cancer Association. 招請口演. 2012, (COEX Seoul, Korea) 2012.6.13
3. 吉田 稚明, 海野 啓, Liu Fang, 在田 幸太郎, 加留部謙之輔, 都築 忍, 大島 孝一, 瀬戸 加大: ゲノム異常陽性 PTCL, NOS におけるサブクローンの存在. 第 52 回日本リンパ網内系学会総会, 2012, 福島ビューホテル(福島) [口演] 2012.6.15
4. 吉田 稚明, 海野 啓, Liu Fang, 在田 幸太郎, 加留部謙之輔, 都築 忍, 大島 孝一, 瀬戸 加大: ゲノム異常陽性 PTCL, NOS におけるサブクローンの存在. 第 52 回日本リンパ網内系学会総会, 2012, 福島ビューホテル(福島) [ポスター(示説)] 2012.6.16
5. 瀬戸 加大: NK 細胞性腫瘍の機能特異的ながん抑制遺伝子としての FOXO3. 第 16 回日本がん分子標的治療学会学術集会, 2012, 西日本総合展示場(北九州市) [ワークショップ] 2012.6.29
6. 岸本 渉, 錦織 桃子, 田嶋 政治, 山本 玲, 坂井 智美, 都築 忍, 瀬戸 加大, 高折 晃史: マントル細胞リンパ腫のマウスモデルの作製. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [ポスター(示説)] 2012.9.19
7. 加留部 謙之輔, 都築 忍, 中村 栄男, 瀬戸 加大: NK 細胞性腫瘍に特異的ながん抑制遺伝子である FOXO3. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [ポスター(示説)] 2012.9.19
8. 都築 忍, 瀬戸 加大: CML-BC における AML1/RUNX1 変異と BCR-ABL の協調作

- 用. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [ポスター(示説)] 2012.9.19
9. 吉田 稚明, 海野 啓, 劉 芳, 在田 幸太郎, 加留部 謙之輔, 都築 忍, 大島 孝一, 瀬戸 加大: ゲノム異常陽性の末梢性T細胞性リンパ腫、非特異型におけるサブクローンの存在. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [口演] 2012.9.20
10. 加留部 謙之輔, 大島 孝一, 瀬戸 加大: 悪性リンパ腫の臨床病理および分子病態の解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [口演] 2012.9.21
11. 都築 忍, 瀬戸 加大: Expansion of mouse hematopoietic stem/progenitor cells by a short isoform of RUNX1/AML1. 第 74 回日本血液学会総会, 2012, 国立京都国際会館(京都) [ポスター(示説)] 2012.10.19
12. 瀬戸 加大: Molecular characterization of T/NK cell malignancies Masao Seto. 第 74 回日本血液学会総会, 2012, 国立京都国際会館(京都) [シンポジウム(口演)] 2012.10.20
13. Noriaki Yoshida, Akira Umino, Fang Liu, MD, Kotaro Arita, Kennosuke Karube, MD, Shinobu Tsuzuki, Koichi Ohshima, and Masao Seto.: Identification of Multiple Subclones in Peripheral T-Cell Lymphoma, Not Otherwise Specified with Genomic Aberrations. 第 54 回米国血液学会総会, 2012, アトランタ(米国) [口演] 2012.12.10
14. Kotaro Arita and Masao Seto.: New mouse models of B-cell lymphoma using in vitro retroviral transduction system. 第 9 回日本癌学会・AACR 合同会議, 2013, ラハイナ(米国) [ポスター] 2013.2.22

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

ATL のゲノム異常解析、遺伝子発現解析、遺伝子機能解析

研究分担者：加留部 謙之輔

愛知県がんセンター研究所・遺伝子医療研究部・主任研究員

研究要旨

ATLの分子病態の解明のため、ATLの主な病型である急性型、リンパ腫型および慢性型の症例検体を収集し、遺伝子異常の解析を行った。特に慢性型ATLを多数集積し、そのゲノム異常を他の型と比較することでATLの病態の進展に重要なゲノム異常領域を絞り込んだ。慢性型と急性型と比較することで、急性型に特徴的なゲノム異常領域を見だし、これらが急性転化や急性型の病態に關与することを示唆した。また、慢性型の中にも臨床的に治療を要する群と経過観察した群では予後が明らかに異なり、ゲノム異常様式も異なることが明らかとなった。また、慢性型から急性転化した症例を経時的に観察することができ、そのゲノム異常は9p21.3領域が關与していることが示唆された。今後はこれらのゲノム異常領域の候補遺伝子を探索するとともに、機能的検討を行う予定である。

A. 研究目的

ATL においては、HTLV-1 ウイルスが発症に大きく關与するが、それ以外のゲノム異常についてはあまり詳細には検討されていない。これまでいくつかの遺伝子がゲノム異常や発現異常が明らかとなっており、がん關連遺伝子の候補として報告されているものの、機能的側面などの詳細な検討がなされた遺伝子は現在までほとんどない。平成 24 年度の研究は前年度の研究に引き続き、慢性型 ATL と急性型あるいはリンパ腫型 ATL のゲノム異常を比較し、発現解析および機能解析も組み合わせることで、ATL の病態により重要な

働きをしている遺伝子異常を同定し、機能的検討を加え、ATL 発症や病態に關与する分子基盤を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

急性型 ATL、リンパ腫型 ATL および慢性型 ATL の検体から、可能な検体は CD4 陽性細胞を選択し、DNA ならびに RNA を抽出する。検体 DNA を用いて Agilent 社 400K ヒト全ゲノムアレイ CGH グラスを用いてプロトコールに基づいてアレイ CGH を施行する。またこれらの検体について、発現解析を行ないゲノム異常の結果と比較し、ゲノ

ム異常のみならず発現レベルにおいても異常のある標的遺伝子を抽出する。抽出された標的遺伝子について、細胞株への導入により機能的側面を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は愛知県がんセンターのヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会の承認を得ている。患者検体は対応する共同研究機関でICを得た上で採取している。

C. 研究結果

昨年度よりも症例数が増え、合計では急性型(35 症例)および慢性型 ATLL(27 症例)について、アレイ CGH を行った。部分的には 44K のデータを用いている。赤色はゲノム増幅、緑色はゲノム欠失の頻度を示す。急性型と慢性型はゲノム異常様式が類似しているものの、1p13.1、9p21.3、10p11-p12 の欠失ならびに 3q の増幅が急性型に特徴的であった(図1)。

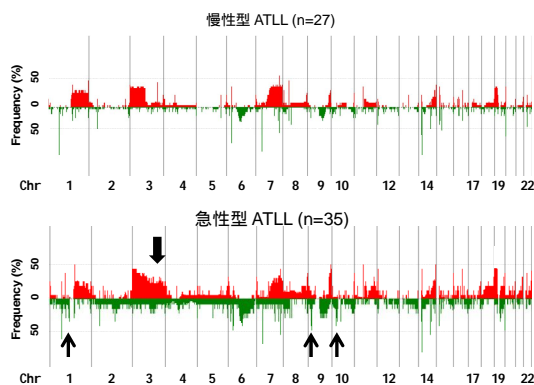


図1. 慢性型と急性型 ATLL のゲノム異常領域の頻度の比較。矢印は急性型に特徴的な領域を示す。

慢性型の経過中に急性転化した症例に

ついて、経時的な検体を解析することができた(図2)。この検体は同じクローン由来であることが他のゲノム異常領域の比較により明らかとなっており、慢性期には 9p21.3 領域に異常は認められなかったものの、急性転化3ヶ月前には異常が出現し、急性転化時にはホモ欠失となったことが明らかとなった。すなわち、急性転化に 9p21.3 欠失が関与することを示唆している(図2)

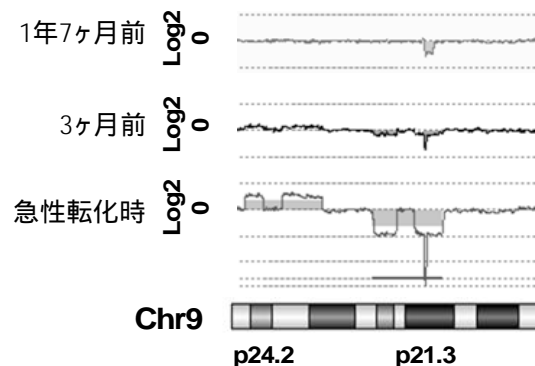


図2. 急性転化を起こした慢性型症例の9p21.3領域の経時的変化

実際に 9p21.3 領域欠失は急性型に特徴的であり、この領域の異常について、検討したところ、きわめて狭い領域に最小共通欠失領域が集中することが明らかとなった(図3)

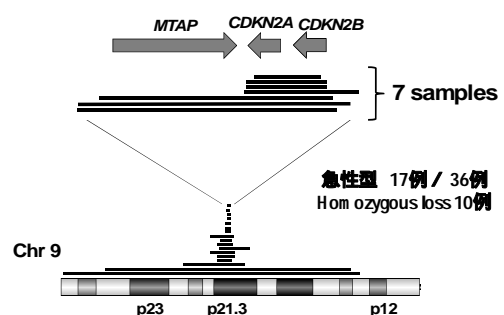


図3. 9p21.3 領域の責任遺伝子は CDKN2A か CDKN2B である

遺伝子導入による機能的影響を調べるために、ATLの細胞株において tetracycline による遺伝子発現誘導株を作成し、コントロールとして GFP を導入したところ、下図に示すように 90%近い細胞において遺伝子発現を誘導でき、また GFP の強制発現は細胞増殖に影響を及ぼさないことも確認できている(図4)。

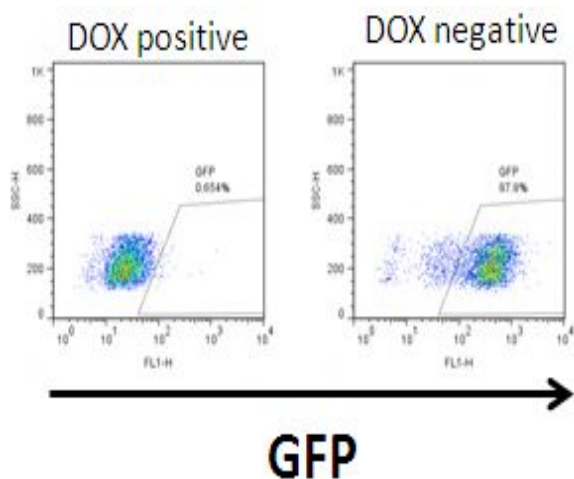


図4. 遺伝子発現誘導系での効果的な遺伝子発現誘導

この系を用いて、責任遺伝子を探索したところ、*CDKN2A* がコードするタンパクのうちの INK4a である可能性が示唆されている。

D. 考察

1) 慢性型と急性型 ATL の比較

ATL の網羅的なゲノム解析を行い、慢性型 ATL の遺伝子異常の特徴を把握しつつある。特に急性型 ATL、およびリンパ腫型 ATL との比較により、病勢の進行に重要な役割を果たす遺伝子を抽出することができつつある。特に、9p21.3 領域欠失は慢性型の急性転化に伴って出現し

た異常であるばかりでなく、急性型に特徴的なゲノム異常である。この遺伝子は急性型を決定するのに重要な役割を担っていることが示唆された。同様に、現在検討中の 1p13.1、9p21.3、10p11-p12 の欠失ならびに 3q の増幅が急性型に特徴的であるので、これらの責任遺伝子も急性転化に関与する可能性が有り、今後の解析が急務である。これらは遺伝子発現解析を同時に関連させて検討し、責任遺伝子を追求する必要がある。

候補遺伝子を抽出したのちは、遺伝子導入による機能的解析を行うが、今回の実験により、高率に遺伝子発現を誘導できる株を作成に成功した。また、複数の ATL の細胞株においても同様に成功しており、これらを用いた機能解析が可能な状態となっている。

また、慢性型と急性型に共通するゲノム異常領域も大変興味深い領域であり、これらは ATL 発症の比較的早期から腫瘍化に関与する遺伝子を含んでいるのかもしれない。これらについても遺伝子発現の結果と関連させながら責任遺伝子を追求していく必要がある。

E. 結論

1. 慢性型および急性型 ATL のゲノム異常を比較し、急性型に特徴的な領域を見いだした。そのうちの 9p21.3 欠失は慢性型の急性転化時に変化した遺伝子であり、本遺伝子の ATL の急性転化への重要な役割が示唆された。
2. 慢性型と急性型 ATL のゲノム異常様式には類似点も多くあり、これらの役

割を検討することは今後重要な研究課題である。

3. 遺伝子発現誘導株を、ATL 細胞株において作成することに成功し、一部、責任遺伝子を詳細に解析することができた。特に、急性転化に関与する 9p21 . 3 領域の責任遺伝子は CDK2A であり、それがコードするタンパクのうち INK4a が責任遺伝子であることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Liu F, Karube K, Kato H, Arita K, Yoshida N, Yamamoto K, Tsuzuki S, Kim W, Ko Y-H, Seto M.: Mutation analysis of NF- B signal pathway-related genes in ocular MALT lymphoma. Int J Clin Exp., 5: 436-441, 2012.
2. Yoshida N, Umino A, Liu F, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M: Identification of multiple subclones in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified with genomic aberrations. Cancer Medicine, 1: 289-294, 2012.
3. Liu F, Yoshida N, Suguro M, Kato H, Karube K, Arita K, Yamamoto K, Tsuzuki S, Ohshima K Seto M: Clonal heterogeneity of mantle cell

lymphoma revealed by array comparative genomic hybridization. The European Journal of Haematology, 90: 51-58, 2012.

4. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Liu F, Kondo E, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M. Lineage-specific growth inhibition of NK cell lines by FOXO3 in association with Akt activation status. Exp Hematol, 40: 1005-1015, 2012.
5. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko Y-H, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. Cancer Letter, 333: 47-55. 2013.

2. 学会発表

1. Karube K., Seto, M.: Genomic and functional analyses of NK-cell neoplasms. 4th T cell lymphoma forum, 2011, サンフランシスコ(米国), [口演] 2012.1.26
2. 吉田 稚明, 海野 啓, Liu Fang, 在田 幸太郎, 加留部 謙之輔, 都築 忍, 大島 孝一, 瀬戸 加大: ゲノム異常陽性 PTCL, NOS におけるサブクローンの存在. 第 52 回日本リンパ網内系学会総会, 2012, 福島ビューホテル(福島) [口演] 2012.6.15

3. 吉田 稚明, 海野 啓, Liu Fang, 在田 幸太郎, 加留部 謙之輔, 都築 忍, 大島 孝一, 瀬戸 加大: ゲノム異常陽性 PTCL, NOS におけるサブクローンの存在. 第 52 回日本リンパ網内系学会総会, 2012, 福島ビューホテル(福島) [ポスター(示説)] 2012.6.16
4. 加留部 謙之輔, 都築 忍, 中村 栄男, 瀬戸 加大: NK 細胞性腫瘍に特異的ながん抑制遺伝子である FOXO3. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [ポスター(示説)] 2012.9.19
5. 吉田 稚明, 海野 啓, 劉 芳, 在田 幸太郎, 加留部 謙之輔, 都築 忍, 大島 孝一, 瀬戸 加大: ゲノム異常陽性の末梢性 T 細胞性リンパ腫、非特異型におけるサブクローンの存在. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [口演] 2012.9.20
6. 加留部 謙之輔, 大島 孝一, 瀬戸 加大: 悪性リンパ腫の臨床病理および分子病態の解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, ロイトン札幌(札幌) [口演] 2012.9.21
7. Noriaki Yoshida, Akira Umino, Fang Liu, MD, Kotaro Arita, Kenosuke Karube, MD, Shinobu Tsuzuki, Koichi Ohshima, and Masao Seto.: Identification of Multiple Subclones in Peripheral T-Cell Lymphoma, Not Otherwise Specified with Genomic Aberrations. 第 54 回米国血液学会総会, 2012, アトランタ

(米国) [口演] 2012.12.10

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

ATL 研究のための新しい実験系の創出

研究分担者 都築 忍

愛知県がんセンター研究所・遺伝子医療研究部・室長

研究要旨

本班では ATL の成立・進展に關与する遺伝子異常の抽出を課題としている。抽出した遺伝子異常の ATL 病態への寄与を実験的に解明するために、本分担課題研究では、昨年度、初代培養 T 細胞に任意の遺伝子を導入し、マウスに移植する系を確立した。本年度は本系の発癌研究への有用性を評価するために、既知のがん遺伝子 MYC、 BCL2、 CCND1 を組み合わせて T 細胞に導入し、マウスに移植した。その結果、高効率で T 細胞腫瘍を作出することが可能であった。腫瘍は CD4 陽性 CD8 陰性 T 細胞であったことから、本系は ATL の病態解明のための有用な実験系となりうる。

A. 研究目的

ATL で見られるゲノム異常がどのように病態に關与するのかを明らかにする目的で、昨年度、初代培養マウス T 細胞に簡便かつ高効率に遺伝子を導入する方法を確立した。本年度は、この方法によって、特定の遺伝子の腫瘍化への寄与をアッセイ可能かどうか検討した。

B. 研究方法

マウス胎児より未分化造血細胞を分離し、デルタリガンドを発現させた OP9 ストローマ細胞上で培養することにより、T 細胞を誘導する。その際に既知のがん遺伝子である Myc, Bcl2, Ccnd1 をレトロウイルスにより T 細胞に導入した。 Myc と

Bcl2 は一つのウイルスベクターで発現させ、マーカーとして GFP を共発現させた。 Ccnd1 は別ベクターで発現させ、ヒト CD4 細胞外ドメインをマーカーとして共発現させた。従って GFP 陽性細胞は Myc と Bcl2 を共に発現する細胞であり、ヒト CD4 を発現する細胞は Ccnd1 を発現する細胞である。遺伝子導入した細胞をマウスに移植し、造腫瘍性や生体内での細胞動態を解析した。

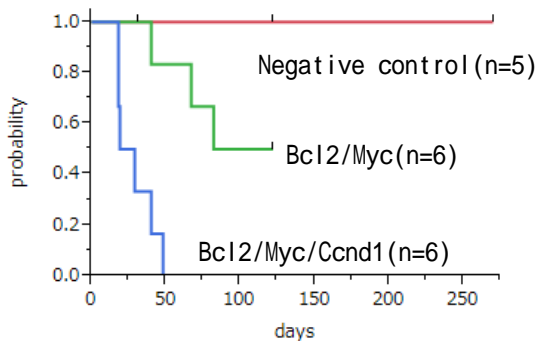
（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

1. Bcl2+Myc を発現させた T 細胞を移植したマウスの半数は 120 日以内に死亡し、Bcl2・Myc・Ccnd1 を共に発現させた T 細胞を移植したマウスは全例が 50 日以内に死亡した。コントロールとして GFP 単独またはヒト CD4 単独で発現させた T 細胞を移植したマウスは無病であった(図 1)。

図 1



2. マウスは、リンパ節・脾臓・胸腺などの肥大をきたし(図 2)、病理組織学的にもリンパ性白血病/リンパ腫の所見であった(図 3)。

図 2

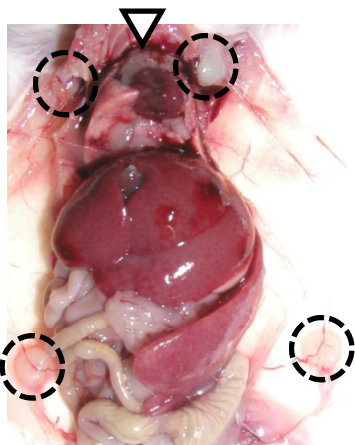
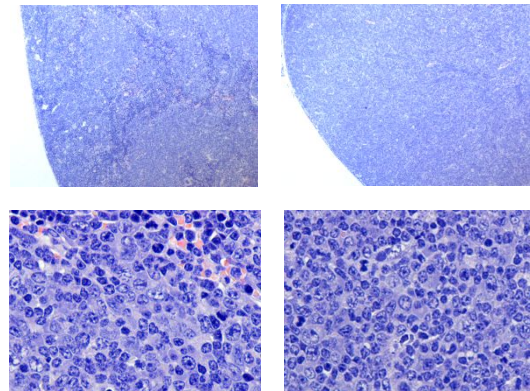


図 3



3. Bcl2・Myc・Ccnd1 を共に発現させた T 細胞を移植したマウスに発生した腫瘍は GFP 陽性かつヒト CD4 陽性であったことから、Bcl2・Myc・Ccnd1 の 3 者が協調して腫瘍化に至ったと考えられた。
4. 発生した腫瘍は Bcl2+Myc の場合も、Bcl2+Myc+Ccnd1 の場合も、ともに CD4 陽性 CD8 陰性であり、ATL に類似した表現型であった。

D. 考察

本研究により、初代培養マウス T 細胞に既知がん遺伝子を導入することにより再現性よく高効率に T 細胞性腫瘍が発生した。発生した腫瘍は CD4 陽性 CD8 陰性細胞であることから、本システムは ATL 研究に有用であることが期待される。導入遺伝子と同時に GFP やヒト CD4 をマーカーとして発現させているためマウス生体内での細胞追跡が可能である。現在、Kusabira オレンジやヒト CD8 などのマーカーも使用できるように改良しており、T 細胞に種々の遺伝子を同時に導入して、

その協調作用を解析することも可能である。今後は、HTLV1 ウイルスの主要ながん遺伝子である Tax や HBZ を T 細胞に導入し、さらにゲノム解析などで見出した付加的遺伝子異常を同細胞に再現することで ATL の成立・進展機構を解析していくことが重要であると考えられる。

E. 結論

1. 初代培養未分化造血細胞から誘導した T 細胞に Myc, Bcl2, Ccnd1 を組み合わせて遺伝子導入することにより効率よく T 細胞性腫瘍を誘導できた。
2. 発生した腫瘍は CD4 陽性 CD8 陰性であり、ATL 類似の表現型を示した。
3. 遺伝子導入した細胞には GFP や ヒト CD4 を共発現させることでマウス体内での追跡が可能であった。
4. ATL 関連遺伝子を T 細胞に導入することによって ATL の成立・進展機構を明らかにし、治療戦略の開発に役立てたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Liu F, Karube K, Kato H, Arita K, Yoshida N, Yamamoto K, Tsuzuki S, Kim W, Ko YH, Seto M.: Mutation analysis of NF- κ B signal pathway-related genes in ocular

MALT lymphoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 5: 436-441, 2012.

2. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Liu F, Kondo E, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Lineage-specific growth inhibition of NK cell lines by FOXO3 in association with Akt activation status. *Exp Hematol*, 40: 1005-1015, 2012.
3. Yoshida N, Umino A, Liu F, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M.: Identification of multiple subclones in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified with genomic aberrations. *Cancer Med*, 1: 289-294, 2012.
4. Liu F, Yoshida N, Suguro M, Kato H, Karube K, Arita K, Yamamoto K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M.: Clonal heterogeneity of mantle cell lymphoma revealed by array comparative genomic hybridization. *Eur J Haematol*, 90: 51-58, 2013.
5. Tsuzuki S, Seto M.: TEL (ETV6)-AML1 (RUNX1) Initiates Self-Renewing Fetal Pro-B Cells in Association with a Transcriptional Program Shared with Embryonic Stem Cells in Mice. *Stem Cells*, 31: 236-247, 2013.
6. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Comprehensive gene

expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. Cancer Lett, (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2. 学会発表

1. 岸本 涉, 錦織桃子, 田嶋政治, 山本 玲, 坂井智美, 都築 忍, 瀬戸加大, 高折晃史.: Establishment of a mouse model for mantle cell lymphoma. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, 札幌、ポスター (示説)
2. 加留部謙之輔, 都築 忍, 中村栄男, 瀬戸加大.: FOXO3 is a lineage-specific tumor suppressor gene to NK cell neoplasms. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, 札幌、ポスター (示説)
3. 都築 忍、瀬戸加大.: Cooperation of altered AML1/RUNX1 with BCR-ABL in inducing blast crisis-like disease of chronic myelogenous leukemia. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, 札幌、ポスター (示説)
4. 吉田稚明, 海野 啓, 劉 芳, 在田幸太郎, 加留部謙之輔, 都築 忍, 大島孝一, 瀬戸加大.: Identification of multiple subclones in Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified with genomic aberrations. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012, 札幌、口演

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

TAX-specific CTL の ATLL 病変における分布の臨床病理的研究

研究分担者 大島 孝一
久留米大学医学部・血液病理学

研究要旨

HTLV-1 の Tax の発現は、多くの ATLL 細胞では低下しており、これによる Tax-specific CTL の存在の有無と ATLL との関連ははっきりしていない。また、最近の研究より FoxP3 の発現が見られることより、抑制性 T 細胞由来と考えられているが、抑制性の機能についてはまだ確定されていない。今回、Tax-specific CTL と FoxP3 の発現の関連を ATLL のリンパ腫において研究を行ったところ、一部の症例で、ATLL のリンパ節病変内には Tax-specific CTL が認められた。また、Tax-specific CTL 数は FOX p 3 陽性の症例では優位に低く、FOX p 3 による免疫抑制の関与が考えられた。

A. 研究目的

ATLL の発症においては、HTLV-1 の Tax の発現が感染細胞の腫瘍化において、アポトーシスの抑制、細胞増殖を介して重要であると、従来、考えられてが、Tax の発現は、多くの ATLL 細胞では低下しており、これによる Tax-specific CTL の存在の有無と ATLL との関連ははっきりしていない。また、ATLL の由来は、CD4+CD25+ T 細胞と考えられていたが、最近の研究より FoxP3 の発現が見られることより、抑制性 T 細胞由来と考えられているが、抑制性の機能についてはまだ確定されていない。今回、Tax-specific CTL と FoxP3 の発現の関連を ATLL のリンパ腫において研究を

行った。

B. 研究方法

- 1) 症例は、病理および臨床診断で ATLL と確定できた症例を選択した。
- 2) PCR法で HLA-A24 の確定できた 14 例の ATLL の凍結材料を用いた。
- 3) MHC dextramer により HLA-A24 restricted Tax-specific CTL を蛍光染色を、凍結材料からの薄切切片で行った。
- 4) CD20, CD3, CD4, CD8, TIA-1, FOXP3 の免疫染色を凍結材料からの薄切切片で行った。
- 5) ホルマリ固定材料で、CD20, CD3, CD45RO, CD4, CD8, TIA-1, FoxP3 の免疫染色も行った。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

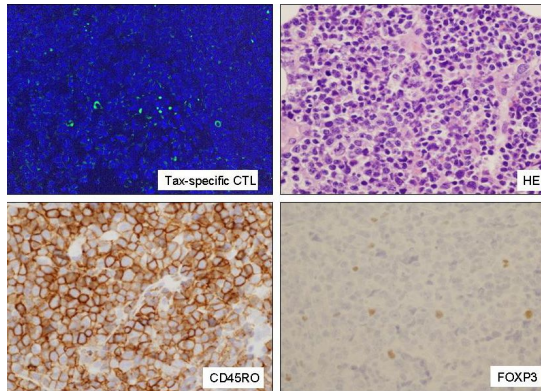


図 Case2 HE: Large cell variant, CD45RO: positive, FOXP3 positive rate: 2%

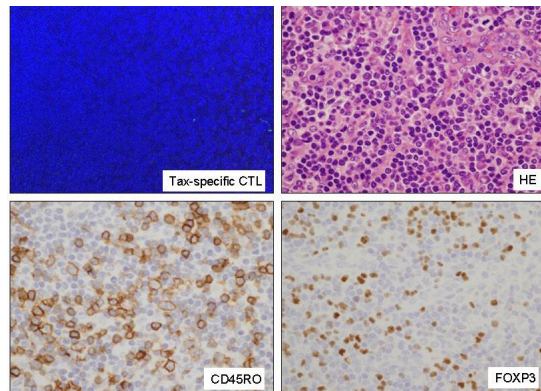


図 Case6 HE: Small cell variant, CD45RO: positive, FOXP3 positive rate: 40%

Case	Sex	Age	Morphology	CD3	CD4	CD8	FOXP3 positive rate(%)	Tax-CTL
1	M	76	Large	+	+	-	10	4
2	M	55	Large	+	+	+	2	4
3	F	69	Hodgkin like	+	+	-	90	0
4	F	72	Small	+	+	-	20	6
5	M	62	Small	+	+	+	50	0
6	F	76	Small	+	+	-	40	0
7	M	73	Large	+	+	+	10	2
8	F	80	Large	-	+	-	2	0
9	M	75	Small	+	+	+	40	0
10	F	71	Small	+	+	-	5	6
11	M	61	Large	+	+	-	7	7
12	M	69	Anaplastic	+	+	+	7	5
13	F	72	Large	+	+	+	10	4
14	F	66	Large	+	+	-	0	8

Large: Large cell predominant, Small: Small cell predominant, Anaplastic: Anaplastic variant

		Tax-CTL (mean)	
Foxp3 expression	Foxp3 positive rate>30%	4.6	p=0.0006
	Foxp3 positive rate<30%	0	
Morphology	Small cell predominant	2	p=0.17
	Large cell predominant	4	
	Anaplastic variant	5	

症例では、ATLL のリンパ節病変内には Tax-specific CTL が認められた。また、Tax-specific CTL 数は、形態との関連はみられなかったが、FOX p3 陽性の症例では優位に低い傾向がみられた。

D. 考察

ATLL の発症においては、HTLV-I の Tax の発現が感染細胞の腫瘍化において、アポトーシスの抑制、細胞増殖を介して重要であると、従来、考えられていたが、Tax の発現は、多くの ATLL 細胞では低下しており、これによる Tax-specific CTL の存在の有無と ATLL との関連ははっきりしていない。また、ATLL の由来は、CD4+CD25+ T 細胞と考えられていたが、最近の研究より FoxP3 の発現が見られることより、抑制性 T 細胞由来と考えられているが、抑制性の機能についてはまだ確定されていないとされていたが、今回の研究により、ATLL のリンパ節病変内には Tax-specific CTL が認められ、また、Tax-specific CTL 数は、形態との関連はみられなかったが、FOX p3 陽性の症例では優位に低い傾向がみられたことより、FOX p3 による免疫抑

制の関与が考えられた。今後、ワクチン療法の開発においての検討が期待される。

E. 結論

ATLLのリンパ節病変内にはTax-specific CTLが認められ、また、Tax-specific CTL数は、FOXp3陽性の症例では優位に低い傾向がみられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hikino S, Ohga S, Kinjo T, Kusuda T, Ochiai M, Inoue H, Honjo S, Ihara K, Ohshima K, Hara T. : Tracheal aspirate gene expression in preterm newborns and development of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Int*, 54: 208-214, 2012.
2. Kiyasu J, Aoki R, Tanaka PY, Pracchia LF, Calore EE, Perez NM, Kimura Y, Niino D, Sugita Y, Takayanagi R, Abe Y, Matsuoka M, Ohshima K.: FOXP3(+) regulatory and TIA-1(+) cytotoxic T lymphocytes in HIV-associated Hodgkin lymphoma. *Pathol Int*, 62: 77-83, 2012.
3. Pongpruttipan T, Kummalue T, Bedavanija A, Khuhapinant A, Ohshima K Arakawa F, Niino D, Sukpanichnant S.: Aberrant antigenic expression in extranodal NK/T-cell lymphoma: a multi-parameter study from Thailand. *Diagn Pathol*, 6:79, 2012.
4. Sugata K, Satou Y, Yasunaga J, Hara H, Ohshima K, Utsunomiya A, Mitsuyama M, Matsuoka M.: HTLV-1 bZIP factor impairs cell-mediated immunity by suppressing production of Th1 cytokines. *Blood*, 119: 434-444, 2012.
5. Hirose Y, Kaida H, Ishibashi M, Uozumi J, Arikawa S, Kurata S, Hayabuchi N, Nakahara K, Ohshima K.: Comparison between endoscopic macroscopic classification and F-18 FDG PET findings in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma patients. *Clin Nucl Med*, 37: 152-157, 2012.
6. Yoshida S, Arakawa F, Higuchi F, Ishibashi Y, Goto M, Sugita Y, Nomura Y, Niino D, Shimizu K, Aoki R, Hashikawa K, Kimura Y, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Nagata K, Ohshima K.: Gene expression analysis of rheumatoid arthritis synovial lining regions by cDNA microarray combined with laser microdissection: up-regulation of inflammation-associated STAT1, IRF1, CXCL9, CXCL10, and CCL5. *Scand J Rheumatol*, 41: 170-179, 2012.
7. Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K,

Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikuta A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S.: EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. Blood, 119: 673-686, 2012.

8. Shimizu-Kohno K, Kimura Y, Kiyasu J, Miyoshi H, Yoshida M, Ichikawa R, Niino D, Ohshima K.: Malignant lymphoma of the spleen in Japan: A clinicopathological analysis of 115 cases. Pathol Int, 62: 577-582, 2012.

2.学会発表

1. Ayako Ichikawa, Junichi Kiyasu, Fumiko Arakawa, Yoshizo Kimura, Masanori Takeuchi, Maki Yoshida, Hiroaki Miyoshi, Kensaku Sato, Daisuke Niino, Yasuo Sugita, Koichi Ohshima: Detection of Tax-specific cytotoxic T lymphocyte in lymph nodes of adult T-cell leukemia/lymphoma. 第71回日本癌学会総会、札幌、2012年9月20日

H.知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者：宇都宮 與
公益財団法人慈愛会 今村病院分院 院長

研究要旨

HTLV-1 キャリアの ALK 陰性未分化大細胞リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma: ALCL) 患者の治療後に慢性型 ATL を発症した症例のゲノム異常について解析した。症例は 58 歳、男性。ALCL 発症時のリンパ節、末梢血 CD4 陽性細胞、慢性型 ATL は未治療時の末梢血 CD4 陽性細胞より DNA を採取し、array CGH を用いてゲノム異常を解析した。ALCL と慢性型 ATL では、ゲノム異常様式は異なり、ゲノム異常数は、慢性型 ATL の方が多かった(図 1)。ALCL で認める 7, 17 番染色体の gain 異常は共通であるが、異常領域は異なった。本例の慢性型 ATL 細胞のゲノム異常では、*MDM4*, *CDK6* の存在部に増幅異常を認めており、これらの遺伝子異常が本例の細胞増殖亢進に関与している可能性がある。また、1p13.1, 10p12.1-p11.2 の欠失は急性型 ATL で多く認められる異常であり(図 2)、急性転化に関わるゲノム異常と考えられる。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病-リンパ腫(ATL)は、ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (human T cell leukemia virus type I: HTLV-1) キャリアから長期潜伏期間の後、発症する末梢性 T 細胞腫瘍である。HTLV-1 からどのようなゲノム異常が積み重なって発症し、さらに進展するのか完全には明らかにされていない。

HTLV-1 キャリアの ALCL 患者の治療後、慢性型 ATL を発症し、早期に急性転化を起こした症例を経験した。本症例の両疾

患のゲノム異常の関連性について探索することを旨とした。

B. 研究方法

症例：58歳、男性。2010年11月全身のリンパ節腫脹がみられた。血清抗HTLV-1抗体は陽性であった。リンパ節生検では、ALK 陰性未分化大細胞リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma: ALCL) の診断であった。リンパ腫細胞の免疫染色では、CD4, CD30, CD25, TIA-1, Granzyme B陽性、EBER 陰性で、サザンブロット検査では、HTLV-1

プロウイルスのモノクローナルな組み込みを認めなかった。染色体検査では、3倍体の複雑核型 [1/20]、46 XY, t(2;14)(q11.2; q13) [1/20], 46 XY, t(9;14)(q22; q22) [1/20], 46 XY [17/20]を認めた。TCR C の再構成は認めなかった。化学療法にて、寛解が得られた後、自家末梢血幹細胞移植を施行し、経過観察となった。2012年12月末梢血中に異常リンパ球の増加（白血球数16750/ μ l, 異常リンパ球76%）がみられ、慢性型ATLと診断した。慢性型ATL診断後、2週間後に動眼神経麻痺がみられた。精査の結果、ATLの中樞神経浸潤と判明し、急性転化と診断した。

検体及び方法：ALCL発症時のリンパ節、末梢血CD4陽性細胞、慢性型ATLは未治療時の末梢血CD4陽性細胞よりDNAを採取した（慢性型ATL診断後早期に中樞神経浸潤により急性転化したが、末梢血には変化のない時期の未治療末梢血CD4陽性細胞を用いた）。400K array CGH (Agilent Cat# G4448)を用いてゲノム異常を調べ、Genomic Workbench のADM-2 threshold 6.0で異常領域の解析を行った。コントロールとして8名の男性DNA mixを用いた。

（倫理面への配慮）

ALCL や ATL 患者は疾患や予後について大きな不安を抱えているので、十分な配慮のもとに説明を行い同意を得た。

C. 研究結果

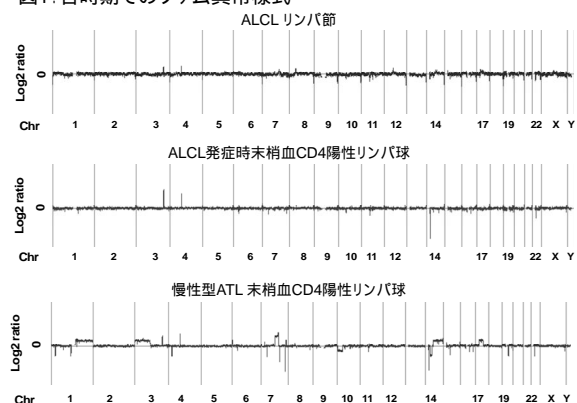
3 検体ともに共通して CNV 部に異常が認められ、同一患者由来の DNA であった。

ALCL と慢性型 ATL では、ゲノム異常様

式は異なり、ゲノム異常数は、慢性型 ATLの方が多かった（図1）。ALCLで認める7, 17番染色体のgain異常は慢性型ATLでも認める異常部位であるが、異常領域は異なった。慢性型ATLのゲノム異常として1q増幅、7q21増幅、1p13.1欠失、10p12.1-p11.2欠失が認められた。

ALCL 発症時の末梢血検体では、CNV 部のみの異常であった。

図1: 各時期でのゲノム異常様式



D. 考察

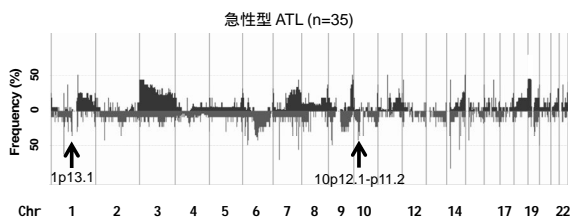
ALCL 発症時の末梢血検体ではゲノム異常はみられず、末梢血中にはALCLの異常細胞やATL細胞は存在していないと考えられる。

ALK陰性ALCLでは、1q41-qter及び6p21.2のゲノム増幅異常が特徴的とされている（Br J Haematol, 2008; 140: 516-26）。また、7q, 17q12-21の増幅はALKに関わらずALCLで約15-20%程度認められる異常部位と報告されている（Br J Haematol, 2008; 140: 516-26, ASH 2011 abstr # 2634）。本例のALCL検体では、ALK陰性ALCLに特徴的とされる部のゲノム異常はみられなかったが、ALCLとして多く認められる異常部位である7q,

17q12-21 部のゲノム増幅異常を認めた。

本例の慢性型 ATL 患者の CD4 陽性細胞では、*MDM4* (1q23.3), *CDK6* (7q22.1) が存在する部にゲノム増幅異常を認めており、これらの遺伝子は、cell cycle の正の regulator として知られている。本例の病態においてもその細胞増殖亢進にこれらの遺伝子が関与している可能性がある。また、1p13.1 及び 10p12.1-p11.2 の欠失は急性型 ATL で多く認められるゲノム異常部位であり、同部の異常は急性転化に関わる部と考えられる (図 2)。本症例は、慢性型 ATL 発症後早期に中枢神経浸潤をきたし、急性転化をきたしており、これらのゲノム異常の所見と臨床経過の関連性が示唆された。

図2: 急性型ATLのゲノム異常頻度



E. 結論

ATL 細胞のゲノム異常の一部は ATL の進展と関連する可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Kannagi M, Hasegawa A, Takamori A, Kinpara S, Utsunomiya A.: The roles of acquired and innate immunity in

human T-cell Luekemia virus type 1-mediated diseases. *Frontiers in Microbiology*, 3: 1-10, 2012.

2. Higashi Y, Kawai K, Yonekura K, Takeda K, Kanzaki T, Utsunomiya A, Kanekura K.: Indication for random skin biopsy for the diagnosis of intravascular large B cell lymphoma. *Dermatology*, 224: 46-50, 2012.
3. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A.: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study. *Blood*, 120: 1734-1741, 2012.
4. Satou Y, Utsunomiya A, Tanabe J, Nakagawa M, Nosaka K, Matsuoka M.: HTLV-1 modulates the frequency and phenotype of FoxP3+CD4+ T cells in the HTLV-1 infected individuals. *Retrovirology*, 9: 46, 2012.
5. Fukuda RI, Tsuchiya K, Suzuki K, Itoh K, Fujita J, Utsunomiya A, Tsuji T.: HTLV-I Tax regulates the cellular proliferation through the down-regulation of PIP3-phosphatase expressions via the NF- κ B pathway. *Int J Biochem Mol*

- Biol, 3: 95-104, 2012.
6. Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Yamashita K, Tsukasaki K, Suzushima H, Ohno Y, Matsuoka H, Jo T, Suzumiya J, Tamura K.: Prognostic index for acute- and lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *J Clin Oncol*, 30: 1635-1640, 2012.
 7. Nishikawa H, Maeda Y, Ishida T, Gnjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S.: Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 119: 3097-3104, 2012.
 8. Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fuzjiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R.: Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia-lymphoma: a multicenter Phase II study. *J Clin Oncol*, 30: 837-842, 2012.
 9. Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kuosawa G, Morishita K.: Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia*, 26: 1238-1246, 2012.
 10. Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T.: Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood*, 119: 2141-2148, 2012.
 11. Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruk, Ogawa S, Watanabe T.: Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers. *Cancer Cell*, 21: 121-135, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 今泉 芳孝
長崎大学病院 血液内科 助教

研究要旨

成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATL)は human T-lymphotropic virus type-I (HTLV-1)によっておこる末梢性 T 細胞腫瘍(PTCL) である。ATL は予後不良な疾患であるが、近年、同種造血幹細胞移植や抗体医薬の有用性が報告されており、適切な診断に基づく治療方針選択の重要性が高まっている。HTLV-1 キャリアにおいて、細胞病理学的に末梢性 T 細胞腫瘍の診断を得れば臨床的には ATL と診断される。しかし、一部の症例では、HTLV-1 のキャリアに発症した ATL 以外とのリンパ増殖性疾患との鑑別が困難である。サザンブロット解析と血液病理専門医による病理診断を施行した症例を後方視的に解析したところ、57 例中 4 例と稀ならず診断困難な症例を認めた。ATL の診断には、疾患単位を形成する特徴的なゲノム異常領域から責任遺伝子を見だし、より精度の高い診断方法を開発する必要がある。

A. 研究目的

成人 T細胞白血病リンパ腫 (ATL) は human T-lymphotropic virus type-I(HTLV-1)によっておこる末梢性T細胞腫瘍(PTCL) である。HTLV-1キャリアにおいて、細胞病理学的に末梢性T細胞腫瘍と診断されれば臨床的にはATLと診断される。Southern blot hybridization(SBH)解析を用いて腫瘍細胞におけるHTLV-1の単クローン性組み込みを確認できればATLの診断は確実となる。しかし、検体中のATL細胞のpopulationが少なく SBHでHTLV-1感染細胞の単クローン性

増殖が証明できない症例も存在する。そのような症例の診断、治療は臨床的に重要な問題点であり、ゲノム解析の結果、より精度の高い診断方法を開発することで、治療方針決定に有用な情報をもたらすことが期待される。我々は自験例でretrospectiveな検討を行い、診断が困難であった症例の頻度、臨床的特徴について検討した。

B. 研究方法

抗 HTLV-1抗体陽性で、当院検査部でHTLV-1のSBH解析を施行し、久留米大学病理学教室で病理診断を行った症例のうち、B

細胞性非ホジキンリンパ腫を除き、ATLを含むPTCL、もしくはホジキンリンパ腫(HL)と診断した57症例を対象とした(2001年4月～2011年10月)。加えて、ATLにおけるゲノム異常を対象とした研究を行う研究代表者らの解析のために、対象となる症例の情報と検体を収集している。

C. 研究結果

当院臨床検査部で施行したHTLV-1 Southern blot hybridization(SBH)の検体はのべ1046検体であった。そのうち、のべ77検体の症例について久留米大学へ病理診断依頼しており、その中に、HTLV-1抗体陽性の悪性リンパ腫(ATL/PTCL/HL)を57症例認めた。SBH解析結果の内訳は、HTLV-1のモノクローナルバンド(MB)を認めた症例[SBH(+)]が44症例、HTLV-1のMBを認めなかった症例[SBH(-)]が13症例であった。SBH(+)44症例のSBH検体の内訳は、LN(17症例)、PB(22症例)、Skin(2症例)、BALF(1症例)、Ascites(1症例)、Pleural effusion(1症例)であった。SBH(+)症例の臨床診断は全例ATLであった。SBH(-)44症例のSBH検体の内訳は、LN(7症例)[1例はPBではSBH(+)、2例はPBでもSBH(-)]、PB(5症例)、Skin(1症例)だった。LNおよびskinでSBH(-)だった8症例のうち、4症例は臨床的にATLと診断されたが、残りの4症例では病理組織像が典型的ではなく、診断はALCL1例、AITL1例、HL2例であった。PBでSBH(-)だった5症例は、全例節外病変で発症しており病理組織診断でPTCLと診断されていたが、組織検体でのSBHは未施行であった。これらの症例は全例ATLと診断されて

いた。LNでSBH(-)で病理学的にもATLと診断できなかった症4症例の転帰は、以下の通りであった。症例1:初発時未分化大細胞リンパ腫(ALCL)⇒6年後再発時ATL:再発後数ヶ月で死亡(腫瘍死)、症例2:初発時血管免疫芽球性T細胞リンパ腫(AITL)⇒3ヶ月後再燃時ATL:3年4ヶ月後死亡(腫瘍死)、症例3:HL(LR)とくすぶり型ATLの合併:2年後生存(寛解)、症例4:初発時HL(MC)⇒再発時PTCL:1年5ヶ月後生存。症例1では、初発時と再発時が同じ腫瘍(クローン)かどうか判断が困難であり、初発時からATLだった可能性について確証が得られなかった。症例2では、SBHでは、初発時LNではMBを認めず、PBではスメア状で単クローン性組み込みははっきりしなかった。数ヶ月後の再燃時にはLNとPBで(サイズが異なる)MBを検出し、経過から初発時よりATLであったと判断した。症例3では、末梢血ではMBを認めたが、LNでは認めず、Hodgkin-like ATLLとの鑑別が困難だった。最終的には、HL(LR)とくすぶり型ATLの併存症例と診断した。症例4も、Hodgkin-like ATLLとの鑑別が困難な症例だったが、PB、LNともにMBを認めず、HL(MC)と診断した。この症例では、再発時にはPTCLの病理診断となっており、初発時からATLだった可能性があるが、再発時はSBHが未施行で、CCR4も陰性であり、結論は得られなかった。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言およびヒトゲノム・遺伝子解析研究、臨床試験に関するわが国の倫理指針に従って研究を実施した。

D. 考察

SBHでモノクローナルバンドを認めず病理学的にもATLとの鑑別が困難な症例を57例中4症例認めた。これらの症例は、比較的長期間生存し、ATLとしては非典型的な臨床経過を示した。この中には、非典型的なATL症例と、HTLV-1キャリアに発症したATL以外のリンパ腫症例が含まれている可能性がある。ATLに対して、近年、同種造血幹細胞移植や抗体医薬などの有用性が報告されており、適切な診断に基づく治療方針の選択が必要である。SBH施行が困難な症例や、SBHを施行しても診断確定に苦慮する症例を認めている。

E. 結論

ATL のゲノム異常を対象とした研究代表者らの解析結果により、ゲノム解析によってATLの疾患特異的な遺伝子異常が同定し、診断に有用な分子マーカーが開発する必要がある。ゲノム解析を推進するために、検体の収集を継続するとともに、臨床病態の解析を進めていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Itonaga H, Taguchi J, Fukushima T, Tsushima H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Honda S, Miyazaki Y.: Distinct clinical

features of infectious complications in adult T-cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis in the Nagasaki Transplant Group. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013 Jan 17. [Epub ahead of print]

2. Itonaga H, Tsushima H, Taguchi J, Fukushima T, Taniguchi H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Uike N, Miyazaki Y.: Treatment of relapsed adult T-cell leukemia/lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the Nagasaki Transplant Group experience. *Blood*, 121: 219-225, 2013.

3.

2. 学会発表

1. Yoshitaka Imaizumi, Kunihiro Tsukasaki, Hideki Tsushima, Masatoshi Matsuo, Daisuke Sasaki, Hiroo Hasegawa, Shimeru Kamihira, Daisuke Niino, Kouichi Ohshima, Yasushi Miyazaki.: Lymphoma cases without detectable monoclonal HTLV-1 integration in HTLV-1 carrier. 第74回日本血液学会学術総会、京都、2012年10月20日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato H, Yamamoto K, Oki Y, Ine S, Taji H, Chihara D, Kagami Y, Seto M, Morishima Y.	Clinical value of flow cytometric immunophenotypic analysis for minimal residual disease detection in autologous stem-cell products of follicular and mantle cell lymphomas.	Leukemia	26	166-169	2012
Chihara D, Matsuo K, Kanda J, Hosono S, Ito H, Nakamura S, Seto M, Morishima Y, Tajima K, Tanaka, H.	Inverse association between soy intake and non-Hodgkin lymphoma risk among women: a case-control study in Japan.	Ann Oncol	23	1061-1066	2012
Liu F, Karube K, Kato H, Arita K, Yoshida N, Yamamoto K, Tsuzuki S, Kim W, Ko Y-H, Seto M.	Mutation analysis of NF- B signal pathway-related genes in ocular MALT lymphoma.	Int J Clin Exp	5	436-441	2012
Liu F, Yoshida N, Suguro M, Kato H, Karube K, Arita K, Yamamoto K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M.	Clonal heterogeneity of mantle cell lymphoma revealed by array comparative genomic hybridization.	Eur J Haematol	90	51-58	2012
Yoshida N, Umino A, Liu F, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Ohshima K, Seto M.	Identification of multiple subclones in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified with genomic aberrations.	Cancer Medicine	1	289-294	2012
Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Liu F, Kondo E, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.	Lineage-specific growth inhibition of NK cell lines by FOXP3 in association with Akt activation status.	Exp Hematol	40	1005-1015	2012
Hikino S, Ohga S, Kinjo T, Kusuda T, Ochiai M, Inoue H, Honjo S, Ihara K, Ohshima K, Hara T.	Tracheal aspirate gene expression in preterm newborns and development of bronchopulmonary dysplasia.	Pediatr Int	54	208-214	2012
Kiyasu J, Aoki R, Tanaka PY, Pracchia LF, Calore EE, Perez NM, Kimura Y, Niino D, Sugita Y, Takayanagi R, Abe Y, Matsuoka M, Ohshima K.	FOXP3(+) regulatory and TIA-1(+) cytotoxic T lymphocytes in HIV-associated Hodgkin lymphoma.	Pathol Int	62	77-83	2012
Pongpruttipan T, Kummalue T, Bedavanija A, Khuhapinant A, Ohshima K Arakawa F, Niino D, Sukpanichnant S.	Aberrant antigenic expression in extranodal NK/T-cell lymphoma: a multi-parameter study from Thailand.	Diagn Pathol	6	79	2012
Sugata K, Satou Y, Yasunaga J, Hara H, Ohshima K, Utsunomiya	HTLV-1 bZIP factor impairs cell-mediated immunity by	Blood	119	434-444	2012

A, Mitsuyama M, Matsuoka M.	suppressing production of Th1 cytokines.				
Hirose Y, Kaida H, Ishibashi M, Uozumi J, Arikawa S, Kurata S, Hayabuchi N, Nakahara K, Ohshima K.	Comparison between endoscopic macroscopic classification and F-18 FDG PET findings in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma patients.	Clin Nucl Med	37	152-157	2012
Yoshida S, Arakawa F, Higuchi F, Ishibashi Y, Goto M, Sugita Y, Nomura Y, Niino D, Shimizu K, Aoki R, Hashikawa K, Kimura Y, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Nagata K, Ohshima K.	Gene expression analysis of rheumatoid arthritis synovial lining regions by cDNA microarray combined with laser microdissection: up-regulation of inflammation-associated STAT1, IRF1, CXCL9, CXCL10, and CCL5.	Scand J Rheumatol	41	170-179	2012
Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikuta A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S.	EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases.	Blood	119	673-686	2012
Shimizu-Kohno K, Kimura Y, Kiyasu J, Miyoshi H, Yoshida M, Ichikawa R, Niino D, Ohshima K.	Malignant lymphoma of the spleen in Japan: A clinicopathological analysis of 115 cases.	Pathol Int	62	577-582	2012
Kannagi M, Hasegawa A, Takamori A, Kinpara S, Utsunomiya A.	The roles of acquired and innate immunity in human T-cell Luekemia virus type 1-mediated diseases.	Frontiers in Microbiology	3	1-10	2012
Higashi Y, Kawai K, Yonekura K, Takeda K, Kanzaki T, Utsunomiya A, Kanekura K.	Indication for random skin biopsy for the diagnosis of intravascular large B cell lymphoma.	Dermatology	224	46-50	2012
Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A.	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study.	Blood	120	1734-1741	2012
Satou Y, Utsunomiya A, Tanabe J, Nakagawa M, Nosaka K, Matsuoka M.	HTLV-1 modulates the frequency and phenotype of FoxP3+CD4+ T cells in the HTLV-1 infected individuals.	Retrovirology	9	46	2012
Fukuda RI, Tsuchiya K, Suzuki K, Itoh K, Fujita J, Utsunomiya A, Tsuji T.	HTLV-I Tax regulates the cellular proliferation through the down-regulation of PIP3-phosphatase expressions via the NF- B pathway.	Int J Biochem Mol Biol	3	95-104	2012

Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Yamashita K, Tsukasaki K, Suzushima H, Ohno Y, Matsuoka H, Jo T, Suzumiya J, Tamura K.	Prognostic index for acute- and lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma.	J Clin Oncol	30	1635-1640	2012
Nishikawa H, Maeda Y, Ishida T, Gnjjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S.	Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T cell leukemia/lymphoma.	Blood	119	3097-3104	2012
Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fuzjiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R.	Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia- lymphoma: a multicenter Phase II study.	J Clin Oncol	30	837-842	2012
Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kuosawa G, Morishita K.	Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma.	Leukemia	26	1238-1246	2012
Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T.	Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study.	Blood	119	2141-2148	2012
Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Ogawa S, Watanabe T.	Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers.	Cancer Cell	21	121-135	2012
Tsuzuki S, Seto M.	TEL(ETV6)-AML1(RUNX1) Initiates Self-renewing Fetal Pro-B Cells in Association with a Transcriptional Program Shared with Embryonic Stem Cells in	Stem Cells	31	236-247	2013

	Mice.				
Umino A, Seto M.	Array CGH Reveals Clonal Evolution of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma.	Methods Mol Biol	973	189-196	2013
Yoshioka S, Tsukamoto Y, Hijiya N, Nakada C, Uchida T, Matsuura K, Takeuchi I, Seto M, Kawano K, Moriyama M.	Genomic profiling of oral squamous cell carcinoma by array-based comparative genomic hybridization.	PLoS One	8	e56165	2013
Seto M.	Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma.	Blood	121	1249-1250	2013
Taguchi O, Tsujimura K, Kontani K, Harada Y, Nomura S, Ikeda H, Morita A, Sugiura H, Hayashi N, Yatabe Y, Seto M, Tatematsu M, Takahashi T, Fukushima A.	Behavior of Bone Marrow-Derived Cells Following in Vivo Transplantation: Differentiation into Stromal Cells with Roles in Organ Maintenance.	Am J Pathol	182	1255-1262	2013
Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko Y-H, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.	Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate.	Cancer Let	333	47-55	2013
Yoshida N, Nishikori M, Izumi T, Imaizumi Y, Sawayama Y, Niino D, Tashima M, Hoshi S, Ohshima K, Shimoyama M, Seto M, Tsukasaki K.	Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise: specified of the thyroid with autoimmune thyroiditis.	Br J Haematol	161	214-223	2013
Itonaga H, Tsushima H, Taguchi J, Fukushima T, Taniguchi H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Uike N, Miyazaki Y.	Treatment of relapsed adult T-cell leukemia/lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the Nagasaki Transplant Group experience.	Blood	121	219-225	2013
Itonaga H, Taguchi J, Fukushima T, Tsushima H, Sato S, Ando K, Sawayama Y, Matsuo E, Yamasaki R, Onimaru Y, Imanishi D, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Honda S, Miyazaki Y.	Distinct clinical features of infectious complications in adult T-cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis in the Nagasaki Transplant Group.	Biol Blood Marrow Transplant	in press		2013