

厚生労働科学研究費補助金  
がん臨床研究事業

成人 T 細胞性白血病 (ATL) の根治を目指した細胞療法の確立および  
その HTLV-1 抑制メカニズムの解明に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鷗池 直邦

(独立行政法人国立病院機構 九州がんセンター血液内科)

平成 23 (2011) 年 4 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

成人T細胞性白血病(ATL)の根治を目指した細胞療法の確立および そのHTLV-1抑制メカニズムの解明に関する研究	鵜池 直邦	-----	1
--	-------	-------	---

### II. 分担研究報告

1. 宿主抗腫瘍免疫応答解析	神奈木真理	-----	8
2. 成人T細胞性白血病(ATL)に対する同種造血幹細胞移植後 100日以内の早期死亡例の検討	宇都宮 與	-----	11
3. ATL及び悪性リンパ腫に対する移植ソース別の同種移植解析	谷口 修一	-----	16
4. ATLに対する同種造血幹細胞移植療法の成績向上に関する研究	重松 明男	-----	20
5. 臨床試験の計画と解析, ATLレトロスペクティブデータ	山中 竹春	-----	21
6. ATLに対する骨髄非破壊的移植法におけるプロウイルス解析 佐藤 賢文	安永純一朗	-----	22
7. ATLに対する骨髄非破壊的移植療法の検討	崔 日承	-----	25
8. 成人T細胞白血病(ATL)に対するHTLV-I Tax特異的T細胞応答賦活化 ペプチドパルス樹状細胞を用いた新規免疫療法第I相臨床試験	末廣 陽子	-----	27
9. ATLに対する臍帯血移植の治療成績の解析	福島 卓也	-----	28
10. 同種造血幹細胞移植後の抗白血病効果を促進する試み	豊嶋 崇徳	-----	30
11. Multi-color FACSによる末梢血ATL細胞の評価	内丸 薫	-----	31
12. 成人T細胞白血病リンパ腫(ATL)の根治を目指した 同種細胞療法の開発・確立とその機序の解明に関する研究	田野崎隆二	-----	33
13. ATLに対する骨髄非破壊的移植療法のキメラ解析 およびウイルス動態の検討	岡村 純	-----	35

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	37
---------------------	-------	----

### IV. 研究成果の刊行物・別刷

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
総括研究報告書

成人 T 細胞性白血病(ATL)の根治を目指した細胞療法の確立および  
その HTLV-1 抑制メカニズムの解明に関する研究  
(H22-がん臨床-一般-028)

研究代表者： 鶴池 直邦 国立病院機構九州がんセンター血液内科 部長

研究要旨

高齢者 ATL 患者に対して同種造血幹細胞を利用した骨髄非破壊的移植療法（RIST）の前向き試験を実施中である。平成 22 年度は、血縁者間末梢血による第 3 期試験（第 II 相）および非血縁骨髄ドナーを介した第 4 期試験（第 I 相）を実施し、第 4 期試験は平成 23 年 3 月目標症例数 15 例まであと 1 例のところまで到達した。また、非血縁臍帯血を用いた RIST の第 5 期試験（第 I 相）の実施計画書を作成中である。HTLV-1 tax エピトープペプチドと自家樹状細胞の組み合わせによる免疫療法（第 I 相）の臨床試験が、実施施設である九州大学および東京医科歯科大学医学部倫理委員会において承認された。感染 HTLV-1 の分子生物学的特徴や移植後の T 細胞応答状況の解析と臨床経過との関連から、RIST による抗 HTLV-1 免疫の役割が明らかになりつつある。

研究分担者

1. 神奈木真理 東京医科歯科大学 教授
2. 宇都宮 與 慈愛会今村病院分院 院長
3. 谷口 修一 虎の門病院 部長
4. 重松 明男 北海道大学病院 助教
5. 山中 竹春 九州がんセンター 研究員
6. 佐藤 賢文 (H22. 4～12)  
京都大学ウイルス研究所 助教
- 安永純一朗 (H23. 1～3)  
京都大学ウイルス研究所 講師
7. 崔 日承 九州がんセンター 医師
8. 末廣 陽子 九州がんセンター 医長
9. 福島 卓也 長崎大学病院 講師
10. 豊嶋 崇徳 九州大学 准教授
11. 内丸 薫 東京大学医科学研究所 准教授
12. 田野崎隆二 国立がん研究センター 副科長
13. 岡村 純 九州がんセンター 部長

A. 研究目的

本研究の目的は、化学療法のみでは治癒困難と思われる ATL に対して、①RIST の前向き検証的臨床試験により、その治療成績の改善を目指すとともに、幹細胞源を非血縁臍帯血にまで拡大することによりそのチャンスを最大限に追求すること、②ATL に対する RIST の HTLV-1 排除機構を解明し、新たな免疫療法の開発に応用すること、③ATL 患者の臨床試験への参加促進を目的としたリクルートシステムを構築することである。

B. 研究方法

1) ATL に対する血縁者間末梢血幹細胞を利用した骨髄非破壊的前処置療法による同種造血幹細胞移植術（RIST、ミニ移植）の安全性と有効性に関する検討

(1-1) 第 3 期臨床試験の実施：

第 2 期試験と前処置を同一にした臨床試験 (NST-3、第 2 相) を実施した。移植対象症例は、急性型およびリンパ腫型 ATL で、高齢であること (50 歳-70 歳) や臓器障害があるなどの理由で通常の血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植の適応にならない患者。また、血清学検査において、HLA 6/6 一致の血縁ドナーを有し、説明同意書を用いて同意を得た者とした。健康な HLA 一致血縁ドナーに対し G-CSF を 5 日間投与し、4 日目からアフレーシスを行って末梢血幹細胞を採取した。主要評価項目は、本移植術による 2 年全生存率で、副次的評価項目は、移植後 100 日時点での全生存率および無増悪生存率、生着・完全キメラの達成 (移植後 day 90±7 でのドナー由来細胞が 90%以上)、移植後 180 日時点での全生存率、移植後 2 年時点での無増悪生存率、GVHD の頻度・重症度、GVHD の発症時期とキメラとの関係、GVHD と抗腫瘍効果、全生存率および無増悪生存率との関係、抗ウイルス (HTLV- I) 効果、抗ウイルス効果との関係、混合キメラに対するドナーリンパ球輸注の効果と毒性などである。予定症例数は 35 例である。

(1-2) 第1期/2期試験登録例の長期追跡：  
すでに終了した第1期/2期試験（第1相）登録例について、その後の状況を解析した。

## 2) ATLに対する非血縁者間幹細胞を利用したRISTの検討：

非血縁者間骨髄を利用した RIST の前向き臨床試験（第4期試験、NST-4）の実施：  
骨髄バンクドナーを介した高齢者 ATL 患者に対する RIST の実施可能性を検討する第1相試験を開始した。これまで本研究班の RIST で用いてきたフルダラビン・ブスルファンを移植前処置として採用し、さらに生着をより確実にするために低線量放射線全身照射（TBI）2Gy を施行することにした。また GVHD 予防については、非血縁者間移植で広く用いられているタクロリムス+短期メソトレキセートを使用することとした。対象は、50歳以上70歳未満の急性型あるいはリンパ腫型で、血縁ドナーが存在しない患者とし、100日の生存と完全キメラ達成を主要評価項目、予定登録数は15症例とした。

## 3) ATL患者の臨床研究参加促進を図るためのリクルートシステムの開発：

各 HTLV-1 関連臨床研究班による合同班会議を開催し、これまで以上に ATL 患者が臨床研究に参加できる効率的なシステムの開発を行う。

## 4) 免疫療法の検討：

血縁者幹細胞を細胞源とした NST-1~3 までの臨床研究において、神奈木らは RIST 後に長期寛解を維持した一部の症例では、抗腫瘍免疫機構が発動し、HTLV-1Tax を標的抗原とした特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）が誘導されることが証明されており、そのエピトープが同定されている。そこで、非血縁者の骨髄を幹細胞源とした NST-4 でも同様な現象が観察されるかどうかを確認した。

## 5) 移植療法に伴う基礎的解析

(5-1) HTLV-1プロウイルス量動態に関する研究：  
末梢血単核細胞(PBMC)から DNA を抽出し、HTLV-1 pX および  $\beta$ -globin に特異的な2種類の蛍光標識オリゴヌクレオチドプローブを用いた Real-time PCR 法（LightCycler）により HTLV-1 プロウイルス量を測定した。

## (5-2) ATLに対する骨髄非破壊的移植法におけるプロウイルス解析：

ATL 細胞ゲノムに組み込まれた HTLV-1 プロウイルスは ATL 細胞に残る唯一の感染の証拠であり、HTLV-1 プロウイルスの解析は残存 ATL 細胞の検出のみならずウイルス発がん機構を明らかにすることも期待される。

造血幹細胞移植後に髄液中のリンパ球数の増加を認めた症例が存在したため、微量の髄液中リンパ球からでも HTLV-1 の組み込み部位を標的として微小残存腫瘍を検出する検査方法を確立した。また一方で、ATL 細胞中のプロウイルス全塩基配列を決定した。

## (5-3) 同種造血幹細胞移植後の抗白血病効果を促進する試み：

同種造血幹細胞移植後の白血病再発を抑制する移植片対白血病（GVL）効果を増強する新たなメカニズムについて検討した。

## (倫理面への配慮)

各施設における倫理委員会での承認後、実施計画書について患者およびドナーに対して十分に説明し書類による同意書を得てから移植および研究を実施している。研究で得られた結果は、匿名化するとともに、日本臨床支援ユニットおよび研究班事務局において厳重に管理し個人のプライバシーに配慮している。研究実施に伴う血液および骨髄検体の採取についても患者本人およびドナーから書類による同意書を得ている。すべての基礎研究についても、各施設の倫理委員会での承認後に実施している。

## C. 研究結果

### 1) ATLに対する血縁者間末梢血幹細胞を利用した骨髄非破壊的前処置療法による同種造血幹細胞移植術（RIST、ミニ移植）の安全性と有効性に関する検討

#### (1-1) 第3期臨床試験の実施：

これまでに16例の移植が終了、平均観察期間1189日（2011年3月）の時点で、移植関連合併死亡(TRM)3例、主要評価項目（2年生存）達成4例であり、合計6例が生存中である。

#### (1-2) 第1期/2期試験登録例の長期追跡：

29例中10例がRIST後70~1125ヶ月間（中央値94ヶ月）生存中であり、5年生存率は34%（95% confidence interval, 18-51%）で、この10例は

いずれもPSは良好（Karnofsky score>90%）で、ATLは治癒したものと判断できる。

## 2) ATLに対する非血縁者間骨髄細胞を利用したRISTの検討：

非血縁者間骨髄を利用したRISTの前向き臨床試験（第4期試験、NST-4）の実施：2011年3月、目標症例数の15例のうち14例の移植が施行された。現時点で、TRMが1例、主要評価項目（100日以内の生着かつ生存）を達成したのが12例であり、10例が生存中である。

## 3) ATL患者の臨床研究参加促進を図るためのリクルートシステムの開発：

2011年2月に、塚崎班との2班合同班会議および他のHTLV-1関連研究班7班と「HTLV-1撲滅に向けて」と題する合同班会議をそれぞれ実施し、各班との連携を強化した。ATLも含んだHTLV-1関連Webサイトの立ち上げ、および一般患者用の医療冊子の作製を行い、広報活動の一環とした。

## 4) 宿主抗腫瘍免疫応答解析：

研究班で進行している骨髄非破壊的造血幹細胞移植の第3期（NST-3）、第4期（NST-4）臨床試験への参加患者の免疫解析を行った。この結果、移植直後には検出できなかったTax特異的陽性CTLが3～6ヶ月後のフォローアップで検出される症例が認められた。また、NST-4における非血縁非感染ドナー由来の幹細胞移植後にもTax特異的CTLの出現する例を確認した。

## 5) 移植療法に伴う基礎的解析

### (5-1) HTLV-I プロウイルス量動態に関する研究：

経時的に測定が可能であった45例中25例（56%）では、RIST後6カ月以内にプロウイルス量が検出限界以下となり、in vivoでHTLV-1感染ATL細胞の排除を誘導する抗HTLV活性の存在が示唆された。RIST後52カ月以上生存している生存例10例の長期追跡結果では、キャリアから移植後、そのままキャリアレベルで推移する群、正常ドナーから移植後、いったん、測定感度以下となり、その後、再びキャリアレベルに戻る群、測定感度以下まで低下し、そのレベルにとどまる群の3パターンが観察された。

### (5-2) ATLに対する骨髄非破壊的移植法におけるプロウイルス解析：

ATL細胞中のプロウイルス全塩基配列を決定しnonsense変異が多数存在することを明らかにした。変異はtax,rex,p12,p30,p13など殆ど全てのウイルス遺伝子に存在したが、HTLV-1 bZIP factor（HBZ）遺伝子のみには検出されなかった。この結果からATL発がん過程においてウイルス遺伝子HBZの重要性が示唆された。

### (5-3) 同種造血幹細胞移植後の抗白血病効果を促進する試み：

ドナーT細胞はアロ抗原を認識して活性化され、アロ抗原を発現した正常細胞に対しGVHDを誘導し、同じくアロ抗原を発現した白血病に対しGVL効果を発揮する。このドナーT細胞が多量のアロ抗原に暴露され続けることによりT細胞疲弊を起こし、GVL効果を喪失し白血病再発が起こることが判明した。このT細胞疲弊にはT細胞上のPD1と標的細胞上のPD-L1分子の相互作用が関与しており、これを阻害することで喪失したGVL効果が部分的に回復した。

## D. 考察

高齢のATL患者を対象とした血縁者末梢血を幹細胞源とするRISTの第I相試験の結果、TRMは20%台へ減少し、29例中10例が生存中であり、5年生存率34%であった。生存中の10例はいずれも全身状態良好であり、ATLは「治癒」していると判断された。現在、血縁者末梢血幹細胞による第II相試験によりその有効性について検証中である。ATL患者の高齢化などともなう血縁ドナーの獲得が困難な現状をふまえて開始した第I相試験（NST-4; 幹細胞源を非血縁者に拡大したRISTの試験）は、2011年3月に目標症例数にあと1例のところまで到達している。さらに幹細胞源を非血縁者臍帯血に拡大して、RISTの安全性と有効性を検証するための第I相試験（NST-5）を計画し、現在実施計画書を作成中である。また、HTLV-I特異的T細胞応答の活性化を目的として、TaxのCTLエピトープペプチド自家樹状細胞の組み合わせによる免疫療法実施計画書を作成し、九州大学医学部および東京医科歯科大学の倫理委員会の承認を受けた。臨床試験に付随した基礎研究の結果からは以下のことが示唆された。すなわち、宿主抗腫瘍免疫応答の解析では、ATL患者からDCが誘導可能であり、個体差はあるものの、試験管内で成熟させたDCは抗原提示能が保たれていることが判明した。樹状細胞療法に

において、DC 誘導中の非感染細胞への HTLV-I 感染や ATL 細胞の生存を極力避ける対策として、通常の DC 誘導系に AZT 添加や MMC 処理の行程を加えるための基礎データが得られ、Tax ペプチドを添加した樹状細胞療法の妥当性と実施方法の詳細がより明確になり計画書がほぼ完成した。HTLV-I の分子生物学的解析では、キャリアの段階から既にナンセンス変異が存在していること、ナンセンス変異は APOBEC3G によって生じていることが明らかとなった。Tax を発がんに必要なとしない症例が少なからずあり、一方、HBZ は全ての症例で保存されていたことから HBZ 遺伝子の発がん過程における重要性が示唆された。同種造血幹細胞移植後の抗白血病効果を促進する試みにより、pDC が移植前処置後の炎症環境下では GVHD 誘導的に作用する可能性が示された。この結果から、pDC 活性化あるいは輸注療法は移植前処置の影響の減弱した移植後期に考慮されるべきであると考えられた。

## E. 結論

ATL への前方視的である本研究班の試験によって、ATL 患者に対する血縁者間の末梢血を利用した RIST の安全性が確立された。今後、2011年4月に登録を終了した非血縁者骨髄を細胞源とした RIST の解析を進めると共に、さらに ATL 患者が RIST の恩恵を受けられる機会を増やすことを目的に、細胞源を非血縁臍帯血にまで拡大した臨床試験を計画する。これまでの研究班の研究によって明らかにされた HTLV-1 抑制機構の原理に基づき、既治療に対する自家樹状細胞による免疫療法を開発中である。感染 HTLV-1 の分子生物学的特徴や移植後の T 細胞応答状況の解析と臨床経過との関連から、RIST による抗 HTLV-1 免疫の役割が明らかになりつつある。近年 ATL に対する新規薬剤の開発が進んでおり、これらの新規薬剤と本研究班の成果 (RIST と免疫療法) とを組み合わせることにより、ATL の根治が目指せるものと考えられる。一方、移植療法を含む ATL の臨床試験に参加している患者の割合はせいぜい 20%程度と考えられるため、他の HTLV-1 関連疾患 (HAM など) の研究班や研究者と連携をとり、HTLV-1 関連疾患に対する広報活動や臨床試験への患者のリクルート促進などにも取り組む。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Nanri T, Uike N, Kawakita T, Iwanaga E, Mitsuya H, Asou N.; A family harboring a germ-line N-terminal C/EBP $\alpha$  mutation and development of acute myeloid leukemia with an additional somatic C-terminal C/EBP $\alpha$  mutation. *Genes, Chromosomes and Cancer* 49:237-241, 2010.
2. Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K, Tsukasaki K, Uike N, Uozumi K, Yamaguchi K, Yamada Y, Hanada S, Tamura K, Nakamura S, Inagaki H, Ohshima K, Kiyoi H, Ishida T, Matsushima K, Akinaga S, Ogura M, Tomonaga M. and Ueda R.: Phase I Study of KW-0761, a Defucosylated Humanized Anti-CCR4 Antibody, in Relapsed Patients With Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma and Peripheral T-Cell Lymphoma. *J. Clin Oncol* 28; 1591-1598, 2010.
3. Seki R, Ohshima K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H, Makino S, Eto T, Moriuchi Y, Taguchi F, Kamimura T, Tsuda H, Shimada K, Okamura T.; Prognostic significance of S-phase kinase-associated protein 2 and p27<sup>kip1</sup> in patients with diffuse large B-cell lymphoma: effects of rituximab. *Annals of Oncol.* 21: 833-841, 2010.
4. Ohmachi K, Ando K, Ogura M, Uchida T, Itoh K, Kubota N, Ishizawa K, Yamamoto J, Watanabe T, Uike N, Choi I, Terui Y, Usuki K, Nagai H, Uoshima N and Tobinai K.; The Japanese Bendamustine Lymphoma Study Group. Multicenter phase II study of bendamustine for relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma. *Cancer Sci* 101; 2059–2064, 2010.
5. Tobinai K, Ogura M, Maruyama D, Uchida T, Uike N, Choi I, Ishizawa K, Itoh K, Ando K, Taniwaki M, Shimada N, Kobayashi K.; Phase I study of the oral mammalian target of rapamycin inhibitor everlimus (RAD001) in Japanese patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma. *Int J Hematol* 92, 563-570, 2010.
6. Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A,

- Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J.; Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials. *Bone Marrow Transplant* 46. 116-118, 2011
7. 鵜池直邦：骨髄異形成症候群患者に対するコミュニケーション・スキル Trends in Hematological Malignancies 2, 92-95, 2010. 2010年4月号、(株)メディカルレビュー社(大阪市)
  8. 林稔展、阿部元昭、清水裕彰、大久保博史、中川誠、鵜池直邦、富沢達：イットリウム90標識イブリツモマブチウキセタン(ゼヴァリン®)による放射免疫療法の副作用解析. 日本病院薬剤師会雑誌 46, 959-962, 2010
  9. 林稔展、阿部元昭、清水裕彰、大久保博史、中川誠、鵜池直邦、富沢達：イットリウム90標識イブリツモマブチウキセタン(ゼヴァリン®)の標識調整条件の最適化に向けた実態調査. 日本病院薬剤師会雑誌 46, 969-972, 2010
  10. 鵜池直邦：特集：治療関連骨髄異形成症候群(MDS)／白血病. 治療関連骨髄異形成症候群(MDS)／白血病の診断. 血液フロンティア 20, 857-864, 2010. 2010年6月号、(株)医薬ジャーナル社(大阪市)
  11. 岡村純、鵜池直邦：成人T細胞白血病(ATL)は幹細胞移植でどこまで治せるようになったか. 季刊きんむ医 No.153, 8-9, 2010年6月号、福岡市医師会勤務医会
  12. 鵜池直邦：オンコロジストの立場からみた患者・家族とのコミュニケーション. 日本サイコオンコロジー学会ニューズレター No.62, 7-8, Aug 2010.
  13. (監修)鵜池直邦、小椋美知則、飛内賢正、新津 望：ゼヴァリン®治療上のポイント. (2010年9月24日発行)、バイエル薬品(株)
  14. 鵜池直邦：国内における臨床経験(2)九州がんセンターにおける本剤の使用経験. 記録集 悪性リンパ腫に関する学術講演会－RI標識抗体療法の現状と将来－. (2010年9月24日発行)、バイエル薬品(株)
  15. 崔日承、鵜池直邦：ゼヴァリン®-放射免疫療法. 医学のあゆみ Vol.235 No.5 457-461, (2010年10月30日発行)、医歯薬出版株式会社(東京都)
  16. 鵜池直邦：EBM がん化学療法-分子標的治療法 2011-2012. yttrium-90 ibritumomab tiuxetan.(2010年11月1日発行)、516-52, 2010 (株)中外医学社(東京都)
  17. 所昭宏、山田祐、鵜池直邦：多発性骨髄患者に対するコミュニケーション・スキル. Trends in Hematological Malignancies 2, 204-207, 2010. (株)メディカルレビュー社(大阪市)
- ## 2. 学会発表
- ### 《国際学会》
1. Suzumiya J, Suzuki K, Uike N, Kawano F, Takeo T, Okamura S, Sakai C, Mori M, Tamura K and Amrubicin LYM Study Group. Late phase II study of amrubicin in previously untreated patients with non-Hodgkin's lymphoma (NHL). 2010 ASCO Annual Meeting. 4-8 June 2010, Chicago, Illinois
  2. Miyawaki S, Ando K, Yokozawa T, Yamauchi T, Watanabe T, Fujisawa S, Uike N, Sakura T, Yagawa K and Hotta T. A Phase I study of AZD1152, an Aurora B kinase inhibitor, in Japanese patients with advanced acute myeloid leukaemia. 35<sup>th</sup> ESMO Congress. 8-12 October 2010, Milan
  3. Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K and Ueda R. Multicenter Phase II Study of KW-0761, a Defucosylated Anti-CCR4 Antibody, In Relapsed Patients with Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma (ATL). 52<sup>th</sup> American society of Hematology annual meeting and exposition. December 4-7, 2010, Orlando, FL, USA
  4. Watanabe T, Morishima Y, Shibata T, Maseki N, Kinoshita T, Suzuki T, Yamaguchi M, Ando K, Ogura M, Taniwaki M, Uike N, Takeuchi K, Nawano S, Terauchi T, Tsukasaki K, Hotta T and Tobinai K. Phase II/III Study of Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisolone with Rituximab (R-CHOP) Versus Biweekly CHOP with Rituximab (R-Bi-CHOP) In Untreated Advanced-Stage Indolent B-Cell Lymphoma: Japan Clinical Oncology Group (JCOG) 0203 Trial. 52<sup>th</sup> American society of Hematology annual meeting and exposition. December 4-7, 2010, Orlando, FL, USA

5. Itoh K, Ando K, Ogura M, Ishizawa K, Watanabe T, Uike N, Terui Y, Usuki K, Nagai H, Uoshima N, Kubota N, Ohmachi K, Uchida T, Yamamoto J, Choi I and Tobinai K. Durable Responses with Bendamustine Monotherapy In Patients with Relapsed/Refractory Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL) and Mantle-Cell Lymphoma (MCL): Updated Follow-up Data From a Japanese Multicenter Phase II Study. 52<sup>th</sup> American society of Hematology annual meeting and exposition. December 4-7, 2010, Orlando, FL, USA

### 《国内学会》

1. 北村宣之、鶴池直邦：悪性リンパ腫に対する放射免疫療法剤である ibritumomab tiuxetan(Zevalin)の初期経験. 第44回日本核医学会九州地方会. 2010年2月14～15日, 佐賀
2. 鶴池直邦、本多絵美、宮下要、崔日承、油布祐二：再発・難治性 Hodgkin lymphoma に対する自家移植 —九州がんセンター単一施設での成績—, 第32回日本造血細胞移植学会総会, 2010年2月19～20日, 浜松
3. 崔日承、本多絵美、宮下要、油布祐二、鶴池直邦：臍帯血移植後の拒絶に対して HLA 二座不一致末梢血幹細胞移植を行った成人 T細胞白血病・リンパ腫の一例, 第32回日本造血細胞移植学会総会, 2010年2月19～20日, 浜松
4. 本多絵美、宮下要、崔日承、油布祐二、鶴池直邦：NIMA 相補同胞より末梢血幹細胞移植を施行した肛門周囲膿瘍を有するクローン病合併急性骨髄性白血病の一例, 第32回日本造血細胞移植学会総会, 2010年2月19～20日, 浜松
5. 鶴池直邦、宮下要、崔日承、油布祐二、中川誠、安部元昭、林稔展、清水裕彰：新規放射免疫療法 (Zevalin 治療)におけるチーム医療と地域連携  
第8回日本臨床腫瘍学会学術集会 (口演)  
2010年3月18～19日, 東京
6. 鶴池直邦：抗がん剤治療と緩和ケアについてのコミュニケーション—オンコロジストの立場から—第15回日本緩和医療学会学術大会 (シンポジウム), 2010年6月18～19日, 東京

7. 鶴池直邦：RI 標識抗体療法薬・Zevalin 療法—現況における最適症例選択と将来のポテンシャル—, 第50回日本リンパ網内系学会 (モーニングセミナー) 2010年6月19～20日, 新潟
8. 鶴池直邦：成人 T細胞白血病(ATL)の根治を目指した細胞療法の確立およびその HTLV-1 抑制メカニズムの解明に関する研究」班 (鶴池班) の紹介 (平成22-がん臨床-一般028) (口演) 第3回 HTLV-1 研究会, 2010.8.28, 東京
9. Tamai Y, Hasegawa A, Tanosaki R, Takamori A, Zeng N, Sasada A, Matsuoka M, Utsunomiya A, Choi I, Uike N, Okamura J, Kannagi M. HTLV-1 Tax-specific CTL responses after reduced-intensity bone marrow transplantation from unrelated donor for ATL. The 6<sup>9th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. September 22-24 2010, Osaka
10. Uike N, Tobinai K, Ogura M, Choi I, Maruyama D, Uchida S, Ishizawa K, Itoh K, Ando K, Taniwaki M, Shimada N, Kobayashi K. Phase I study of mTOR inhibitor (RAD001 everolimus) in patients with relapsed or refractory NHL (口演). The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. September 24-26 2010, Yokohama
11. Suehiro Y, Miyashita K, Choi I, Yufu Y, Uike N. Clinical characteristics of low-grade B cell lymphoma with macroglobulinemia (an IgM paraprotein) (口演). The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. September 24-26 2010, Yokohama
12. Choi I, Miyashita K, Suehiro Y, Yufu Y, Uike N. Zevalin therapy following salvage chemotherapy for relapsed indolent lymphoma. The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. September 24-26 2010, Yokohama
13. 宮下要、本多絵美、崔日承、末廣陽子、油布祐二、鶴池直邦：R-CHOP 療法と Helicobacter cinaedi 敗血症 (口演). The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. September 24-26 2010, Yokohama
14. Yokozawa T, Ando K, Sakura T, Yamauchi T, Watanabe T, Fujisawa S, Uike N, Miyawaki S,



Yagawa K, Hotta T. A Phase I study of AZD1152, an Aurora B kinase inhibitor, in Japanese patients with advanced acute myeloid leukemia (口演). The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. September 24-26 2010, Yokohama

15. Ishizawa K, Yamamoto J, Ando K, Ohmachi K, Ogura M, Uchida T, Itoh K, Kubota N, Watanabe T, Uike N, Choi I, Terui Y, Usuki K, Nagai H, Uoshima N, Tobinai K. Phase 2 study of bendamustine for relapsed or refractory indolent B-NHL and mantle cell lymphoma. The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. September 24-26 2010, Yokohama
16. Choi I, Okamura J, Utsunomiya A, Tanosaki R, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Uike N, on behalf of the ATLL allo-HSCT study group. Antiviral effect of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimen (RIC) for adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL): Short and long-term kinetics of HTLV-1 proviral load. The 1<sup>st</sup> ISCT Asia-Pacific Regional Meeting. 17-20 October 2010, Miyazaki
17. Hasegawa A, Zeng N, Shimizu Y, Sasada A, Takamori A, Tamai Y, Utsunomiya A, Tanosaki R, Choi I, Uika N, Okamura J, Kannagi M. Basic study on peptide-pulsed dendritic cell-based immunotherapy for adult T-cell leukemia. The 1<sup>st</sup> ISCT Asia-Pacific Regional Meeting. 17-20 October 2010, Miyazaki
18. 鵜池直邦 : RI 内照射療法の臨床利用の発展を目指して本邦初の放射免疫療法薬ゼヴァリンのポテンシャルー血液内科医の立場からー 第 50 回日本核医学会学術総会 (シンポジウム) .2010 年 11 月 12~13 日, さいたま
19. 崔日承、宮下要、末廣陽子、田口健一、鵜池直邦 : ボルテゾミブによる肺障害と鑑別が困難であった肺ムコール症の 1 例. 第 35 回日本骨髄腫研究会総会. 2010 年 11 月 20 日, 富山
20. 鵜池直邦 : 悪性リンパ腫治療の最前線ー再発・難治性低悪性度 B 細胞リンパ腫を中心としてー第 64 回国立病院総合医学会 (イブニングセミナー) 2010 年 11 月 26~27 日, 福岡

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

宿主抗腫瘍免疫応答解析

研究分担者：神奈木真理 東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 教授

研究要旨

我々はこれまでに、骨髄非破壊的造血幹細胞移植を受け寛解した ATL 症例の中に、HTLV-I Tax 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が活性化する症例を見だし、CTL が認識する標的抗原の解析から HLA-A2, A24, A11 に拘束されるメジャーエピトープを同定した。ATL 患者では CTL 活性が減弱しており、Tax 特異的 CTL が抗ウイルス、抗腫瘍効果を持つことから、Tax 特異的 CTL を活性化させるワクチンには ATL に対する治療あるいは再発予防効果が期待される。本研究班では、成人 T 細胞白血病 (ATL) に対する HTLV-I Tax 特異的 T 細胞応答の活性化を目的として、同定した CTL エピトープ部位のペプチドを添加した樹状細胞を用いて新規免疫療法第 I 相臨床試験を計画し、九州大学と東京医科歯科大学で実施するため準備を進めている。本年度は、計画書を東京医科歯科大学の倫理審査委員会に提出し説明書および同意書の修正を経て承認された。さらに、九州大学の担当者および実際に細胞調整を行う学内の細胞治療センターと協議を行い、詳細な標準作業手順の検討、使用薬剤の選択・購入、細胞治療センター内 P3 施設の使用準備を行った。これらと同時に、研究班で進行している骨髄非破壊的造血幹細胞移植の第 3 期、第 4 期臨床試験への参加患者の免疫解析を行った。この結果、移植直後には検出できなかった Tax 特異的陽性 CTL が 3～6 ヶ月後のフォローアップで検出される症例が認められた。また、非血縁非感染ドナー由来の幹細胞移植後にも Tax 特異的 CTL の出現する例を確認した。

A. 研究目的

ATL 患者に対する Tax 特異的 CTL 応答の強化を目的とした、CTL エピトープ部位のペプチドを付加した樹状細胞 (DC) 療法の臨床試験の実施準備、および骨髄非破壊的造血幹細胞移植患者の免疫解析。

B. 研究方法

1. 樹状細胞の誘導：Ficoll と OptiPrep を用いた密度勾配法により末梢血から単球分画を分離し、dish に付着させた後、定法に基づき GM-CSF と IL-4 で DC を分化させ、TNF $\alpha$ 、OK432 刺激により DC を成熟させ、ペプチドを添加する。
2. 東京医科歯科大学倫理審査：委員会への計画申請書、説明書、同意書の提出および修正。
3. 標準作業手順の検討：九州大学の担当者との協議、東京医科歯科大学の細胞調整センターとの協議を行うとともに、培地選択、手順の細部については、健康人由来の DC 誘導実験により検討を加えた。

4. 骨髄非破壊的造血幹細胞移植患者の免疫解析：PBMC のテトラマー染色、Tax 蛋白に対するインターフェロン $\gamma$ 産生能、自家細胞株の樹立できた症例については CTL 誘導を試みた。

C. 研究結果

1. 東京医科歯科大学倫理審査：昨年度までに作成した臨床試験計画書を東京医科歯科大学倫理審査委員会に提出した。予備審査段階で説明書と同意書の大幅な修正を行い、最終的に承認された。
2. 標準作業手順の検討：九州大学の担当者との協議により懸案となっていた IL-4、ペプチド濃度、培地選択について検討を加えた。固形腫瘍に対する樹状細胞誘導方法に比べ、ATL では末梢血中に感染細胞が多く含まれ、OptiPrep による分離工程が加わるため、収量の再検討を行った。また、東京医科歯科大学の細胞治療センターとの協議を行い、センター内 P3 施設の使用許可を得るとともに必要書類の作成、必要物品の購入整備を行った。さらに、安全性検査にか

かる日数を勘案し、ペプチドパルス DC 作成後皮下投与までの間は一旦凍結することとした。

**3. 骨髄非破壊的造血幹細胞移植患者の免疫解析:** 第 3 期試験(血縁者間移植)参加患者の長期フォローアップ検体の数例で、PBMC の Tax 蛋白に対するインターフェロン $\gamma$  産生能が移植後 3~6 ヶ月で検出され、その後低下する傾向が認められた。第 4 期試験 (非血縁者間移植) 参加患者の移植前検体から自家 HTLV-I 感染細胞株を樹立し、移植後の PBMC を培養中で刺激したところ、A2402/Tax301-309 テトラマー染色により Tax 特異的 CTL の増加を認めた。しかし、その増殖能は弱く何らかの抑制機序の存在も示唆された。長期培養では HTLV-I 特異的に増殖する CD4 陽性細胞が優勢となった。

#### D. 考察

九州大学に続いて東京医科歯科大学倫理審査委員会でも、「成人 T 細胞白血病(ATL)に対する HTLV-I Tax 特異的 T 細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた新規免疫療法第 I 相臨床試験」が承認された。

ATL の特殊性を考慮し、従来の樹状細胞調整方法に加えて必要となった細部の変更点がかたまりつつあり、2 施設で臨床試験を進行するため双方の担当者による合同の予行演習を行う計画である。

非血縁者 (非感染) ドナーからの骨髄非破壊的造血幹細胞移植例においても、Tax 特異的 CTL 応答が得られたことは、免疫応答を起し得るに十分な Tax 抗原提示が移植後のレシピエント生体内に存在したことを示している。

#### E. 結論

「成人 T 細胞白血病(ATL)に対する HTLV-I Tax 特異的 T 細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた新規免疫療法第 I 相臨床試験」が倫理委員会に承認され、各施設内の実施準備段階にはいった。

非血縁者非感染ドナーからの骨髄非破壊的造血幹細胞移植後にも Tax 特異的 CTL 応答が確認された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takamori A, Hasegawa A, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Shimizu Y, Tamai Y,

Sasada A, Zeng N, Choi I, Uike N, Okamura J, Watanabe T, Masuda T, and Kannagi M.; Functional impairment of Tax-specific but not CMV-specific CD8<sup>+</sup> T-cells in a minor population of asymptomatic HTLV-I-carriers. Submitted to Int. J. Cancer.

2. Kannagi M, Hasegawa A, Kinpara S, Shimizu Y, Takamori A, Utsunomiya A.; Double control of viral expression by innate and acquired immunity in Human T-cell leukemia virus type-I infection. (Review) Cancer Sci. in press.
3. 神奈木真理: ATL・HTLV-1 研究の潮流. 第 8 回. HTLV-I 感染と免疫. 分子細胞治療別冊 (先端医学社) pp36-40, 2010.
4. 長谷川温彦、金原秀一、神奈木真理: I 型インターフェロンによる HTLV-1 発現制御. 血液・腫瘍科, 60: 587-593, 2010

#### 2. 学会発表

##### 《国際学会》

1. Kannagi M, Kinpara S, Hasegawa A, Shimizu Y, Oiki H, Masuda T, Yamano Y, Utsunomiya A. Double control of viral expression by innate and acquired immunity in Human T-cell leukemia virus type-I infection. 14th International Congress of Immunology, August, 2010 Kobe.
2. Takamori A, Hasegawa A, Shimizu Y, Tamai Y, Zeng N, Utsunomiya A, Yamano Y, Maeda Y, Choi I, Uike N, Tanosaki R, Okamura J, Masuda M, Okudaira T, and Kannagi M. Functional studies on HTLV-1 Tax-specific CTLs in chronic ATL patients. 14th International Congress of Immunology, August, 2010 Kobe.
3. Hasegawa A, Zeng N, Shimizu Y, Sasada A, Takamori A, Tamai Y, Utsunomiya A, Tanosaki R, Choi I, Uike N, Okamura J, and Kannagi M. Basic study on peptide-pulsed dendritic cell-based immunotherapy for adult T-cell leukemia. The 1<sup>st</sup> International Society for Cellular Therapy. Asia-Pacific Regional Meeting. 2010 年 10 月、宮崎

##### 《国内学会》

1. 神奈木真理: ATL ウイルスに対する宿主防御と疾患発現. 日沼頼夫京都大学名誉

教授文化勲章受章記念シンポジウム.  
2010年3月、京都

2. 長谷川温彦、曾 娜、神奈木真理: HTLV-1 経口感染ラットにおけるペプチドパルス樹状細胞による HTLV-1 特異的 CTL 応答の賦活化. 第 2 回 造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会 2010 年 8 月、松山
3. Tamai Y, Hasegawa A, Tanosaki R, Takamori A, Zeng N, Sasada A, Matsuoka M, Utsunomiya A, Choi I, Uike N, Okamura J, and Kannagi M. HTLV-1 Tax-specific CTL responses after unrelated allogeneic reduced-intensity bone marrow transplantation for ATL. 第 69 回 日本癌学会、2010 年 9 月、大阪
4. 長谷川温彦、清水由紀子、宇都宮與、崔日承、鵜池直邦、岡村純、高森絢子、玉井洋太郎、曾 娜、神奈木真理: 成人 T 細胞白血病発症者の末梢血より誘導した単球由来樹状細胞の機能解析. 第 58 回 日本ウイルス学会 2010 年 11 月、徳島
5. 曾 娜、長谷川温彦、玉井洋太郎、清水由紀子、高森絢子、金原秀一、増田貴夫、神奈木真理: HTLV-1 経口感染ラットを用いた Tax ペプチドパルス骨髄由来樹状細胞による Tax 特異的 CD8 陽性 T 細胞の賦活化. 第 58 回 日本ウイルス学会 2010 年 11 月、徳島
6. 玉井洋太郎、長谷川温彦、田野崎隆二、高森絢子、曾娜、笹田亜麻子、松岡雅雄、宇都宮與、崔日承、鵜池直邦、岡村純、神奈木真理: ATL に対する骨髄非破壊的非血縁間骨髄移植後の HTLV-1 特異的 T 細胞応答. 第 33 回日本造血移植学会. 2011 年 3 月、松山

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

成人 T 細胞性白血病（ATL）に対する同種造血幹細胞移植後  
100 日以内の早期死亡例の検討

研究分担者：宇都宮 興 慈愛会 今村病院分院 院長

研究要旨

ATL の同種造血幹細胞移植後の生存率の向上を目指し、移植後の早期死亡例について検討した。当院で同種造血幹細胞移植を施行した ATL 患者 46 例中 100 日以内の早期死亡 12 例を対象に、早期死亡と関連する可能性のある要因について後方視的に検討した。同種造血幹細胞移植の早期死亡は、移植前 PD 例、HLA 不一致例、HCT-CI 2 点以上に多かった。ATL 患者の同種造血幹細胞移植にあたっては、移植前の寛解状態だけでなく、HLA の一致度、HCT-CI も合わせて、移植適応を考慮していく必要がある。

A. 研究目的

成人 T 細胞性白血病リンパ腫（ATL）の予後の改善のために急性型やリンパ腫型 ATL に対しては同種造血幹細胞移植が行われている。しかし、ATL における同種造血幹細胞移植では治療関連死が多く、3 年生存率は 3 割程度である。ATL の同種造血幹細胞移植後の生存率の向上を目指し、移植後の死亡例、特に早期死亡例を解析し、その早期死亡の要因を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象は、1998 年 6 月から 2010 年 3 月までに当院で同種造血幹細胞移植を施行した ATL 患者 46 例中 100 日以内の早期死亡 12 例である。早期死亡 12 例について早期死亡の要因を臨床的に検討した。

（倫理面への配慮）

ATL 患者の同種造血幹細胞移植においては、移植後の生存率も十分ではないことを患者に説明し、自由意思に基づき、文書による同意を取得した。

C. 研究結果

同種移植後早期死亡した 12 例の患者背景は、年齢中央値 51.5 歳（40-59 歳）で、男 7 例、女 5 例、病型は全例急性型であった。移植時の一般状態（Performance Status: PS）は 1 が 11 例、2 が 1 例、寛解状態は完全寛解（Complete Remission: CR）3 例、非寛解（Non Remission: NR）9 例（不変 2 例、増悪 7 例）。HCT-specific comorbidity index（HCT-CI）は 0 点 2 例、1~2

点 8 例（1 点 3 例、2 点 5 例）、3 点以上 2 例で、CR 例では 1~2 点 2 例（1 点 1 例、2 点 1 例）、3 点以上 1 例。移植幹細胞源は骨髄 5 例、末梢血 6 例、臍帯血 1 例で、血縁者間移植は 9 例（骨髄破壊的前処置が 6 例で、そのうち HTLV-1 陽性ドナーが 2 例、骨髄非破壊的前処置が 3 例、そのうち HTLV-1 陽性ドナーが 1 例）、非血縁者間移植は 3 例（臍帯血移植 1 例）であった。HLA の一致度では、A, B, DR locus の 6/6 の一致が 5 例、5/6 が 4 例、3-4/6 が 3 例で、CR 例では 6/6 の一致は 1 例のみであった。化学療法開始から移植までの期間の中央値は 184.5 日（100-289 日）で、180 日以上は 7 例であった。急性 GVHD（aGVHD）の発症は評価可能な 10 例のうち Grade 0~1 が 4 例、Grade 2 が 4 例、Grade 3 が 2 例で、CR 例は Grade 2 が 2 例であった。生存期間の中央値は 54.5 日（10-98 日）で、死因は血栓性微小血管障害症（thrombotic microangiopathic: TMA）4 例、腫瘍死 3 例（移植前全て PD 例）、aGVHD 2 例、敗血症 2 例、出血 1 例であった。

D. 考察

ATL における同種造血幹細胞移植の早期死亡は移植前 PD 例、HLA 不一致例、HCT-CI 2 点以上に多かった。移植前 CR 例での早期死亡例は HCT-CI 3 点以上の high risk 群が含まれていた。ATL 患者の同種造血幹細胞移植にあたっては、移植前の寛解状態だけでなく、HLA の一致度、HCT-CI も合わせて、移植適応を考慮していく必要があると思われる。

## E. 結論

ATL における同種造血幹細胞移植の早期死亡の要因としては移植前 PD 例、HLA 不一致例、HCT-CI 2 点以上などがあげられた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Takamatsu Y, Suzumiya J, Utsunomiya A, Maeda K, Matsuoka H, Suzushima H, Tsukada J, Shibata K, Tamura K.; The Kyushu Hematology Organization for Treatment Study Group (K-HOT) : THP-COP regimen for the treatment of peripheral T-cell lymphoma and adult T-cell leukemia/lymphoma: a multicenter phase II study. *Eur J Haematol* 84(5): 391-397, 2010
2. Seki R, Ohshima K, Nagafuji K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H, Makino S, Eto T, Moriuchi Y, Taguchi F, Kamimura T, Tsuda H, Ogawa R, Shimoda K, Yamashita K, Suzuki K, Suzushima H, Tsukazaki K, Higuchi M, Utsunomiya A, Iwahashi M, Imamura Y, Tamura K, Suzumiya J, Yoshida M, Abe Y, Matsumoto T, Okamura T : Rituximab in combination with CHOP chemotherapy for the treatment of diffuse large B cell lymphoma in Japan: a retrospective analysis of 1,057 cases from Kyushu Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 91(2): 258-266, 2010
3. Ishii T, Ishida T, Utsunomiya A, Inagaki A, Yano H, Komatsu H, Iida S, Imada K, Uchiyama T, Akinaga S, Shitara K, Ueda R: Defucosylated humanized anti-CCR4 monoclonal antibody KW-0761 as a novel immunotherapeutic agent for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res* 16(5): 1520-1531, 2010
4. Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K, Tsukasaki K, Uike N, Uozumi K, Yamaguchi K, Yamada Y, Hanada S, Tamura K, Nakamura S, Inagaki H, Ohshima K, Kiyoi H, Ishida T, Matsushima K, Akinaga S, Ogura M, Tomonaga M, Ueda R: Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 28(9):1591-1598, 2010
5. 大内尉義, 千葉滋, 宇都宮興, 秋山秀樹 : 座談会 造血器腫瘍のさらなる理解と日常診への応用. *Medical Practice* 27(2): 225-242, 2010
6. 宇都宮興 : ATL 最近の話題と治療－移植治療や未来の治療を含めて『症例検討を通じて学ぶ悪性リンパ腫診療の実際』－リンフォーマ井戸端会議から学んだこと－. 菊池昌弘・田村和夫・大島孝一・鈴宮淳司編. メディカルレビュー社, 大阪, 2010, pp59-62
7. Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J.: Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials. *Bone Marrow Transplant* 46(1): 116-118, 2011
8. Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimaruru K, Kou KR, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S, Yamaguchi K.; Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. *Blood* 116(8):1211-1209, 2010
9. 矢野貴文, 高崎能久, 進藤朗子, 時任大吾, 福留聖, 上田博一郎, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 宇都宮興 : 同種造血幹細胞移植後の下部消化管 graft-versus-host disease に関する内視鏡的検討. *日本消化器内視鏡学会雑誌*, 52(3): 389-394, 2010
10. Hishizawa M, Kanda J, 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.; Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. *Blood* 116(8):1369-1376, 2010
11. 宇都宮興 : IV-18. 成人 T 細胞白血病/リンパ腫 血液疾患 最新の治療 2011-2013 直江知樹, 小澤敬也, 中尾眞二 編. 南江堂 東京, 2010, pp214-219

12. Waki F, Masuoka K, Fukuda T, Kanda Y, Nakamae M, Yakushijin K, Togami K, Nishiwaki K, Ueda Y, Kawano F, Kasai M, Nagafuji K, Hagihara M, Hatanaka K, Taniwaki M, Maeda Y, Shirafuji N, Mori T, Utsunomiya A, Eto T, Nakagawa H, Murata M, Uchida T, Iida H, Yakushiji K, Yamashita T, Wake A, Takahashi S, Takaue Y, Taniguchi S.; Feasibility of reduced-intensity cord blood transplantation as salvage therapy for graft failure: results of a nationwide survey of 80 adult patients. *Biol Blood Marrow Transplant*, [Epub ahead of print], 2010
13. 蓮井和久, 宇都宮與, 瀬戸山充: 第3章 リンパ球増殖疾患の鑑別診断 腫瘍性疾患 非 Hodgkin リンパ腫・T/NK 細胞性 成人 T 細胞白血病/リンパ腫。癌診療指針のための病理診断プラクティス リンパ球増殖疾患。青笹克之編。中山書店 東京, 2010, pp210-218
- 2. 学会発表**
1. 高塚祥芝, 竹内昇吾, 徳永雅仁, 窪田歩, 徳永真弓, 中野伸亮, 宇都宮與: ATL の同種造血幹細胞移植後の長期生存例における末梢血 HTLV-1 プロウイルス量. 第 32 回日本造血細胞移植学会総会, 2010 年 2 月 19-20 日, 浜松
2. 東美奈, 北原美代子, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 宇都宮與: 化学療法や造血幹細胞移植を受ける患者に対する卵子保存の情報提供と患者支援. 第 32 回日本造血細胞移植学会総会, 2010 年 2 月 19-20 日, 浜松
3. 内田綾子, 武清孝弘, 村山芳博, 三石敬之, 堂園浩一朗, 北原美代子, 徳永雅仁, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 宇都宮與: バイオクリーン病棟における造血幹細胞移植患者の体力・QOL の変化について. 第 32 回日本造血細胞移植学会総会, 2010 年 2 月 19-20 日, 浜松
4. 有村鮎美, 大高理恵, 松下マリ子, 北原美代子, 宇都宮與, 高塚祥芝, 竹内昇吾: 造血細胞移植患者のアデノウイルスによる出血性膀胱炎の看護. 第 32 回日本造血細胞移植学会総会, 2010 年 2 月 19-20 日, 浜松
5. Nakano N, Takatsuka Y, Tokunaga M, Takeuchi S, Kubota A, Tokunaga M, Utsunomiya A: Chronic GVHD after allo-SCT would be necessary for better outcome of allogenic stem cell transplantation (allo-SCT) for chemorefractory non-Hodgkin's lymphomas-a single institute retrospective study. *BMT Tandem Meetings*, Orlando, Florida, February 24-28, 2010
6. 米倉健太郎, 宇都宮與, 内田洋平, 松下茂人, 高塚祥芝, 竹内昇吾, 徳永雅仁, 中野伸亮, 窪田歩, 徳永真弓, 武田浩一郎, 神埼保, 河井一浩, 金蔵拓郎: くすぶり型 ATL の中の皮膚型 ATL についての検討. 第 8 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2010 年 3 月 18-19 日, 東京
7. 東美奈, 松山淳史, 竹内昇吾, 宇都宮與: 進行性多発性骨髄腫における Bortezomib の有害事象分析と予防策. 第 8 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2010 年 3 月 18-19 日, 東京
8. 窪田歩, 宇都宮與, 竹内昇吾, 徳永雅仁, 徳永真弓, 中野伸亮, 高塚祥芝: ATL 患者における HTLV-1 プロウイルス量の解析. 第 50 回日本リンパ網内系学会総会, 2010 年 6 月 18-19 日, 新潟
9. 中野和民, 山岸誠, 三宅在子, 加賀美弥生, 包明久, 宇都宮與, 山口一成, 内丸薫, 渡邊俊樹: 成人 T 細胞白血病 (ATL) 患者での microRNA 発現異常の実態. 第 50 回日本リンパ網内系学会総会, 2010 年 6 月 18-19 日, 新潟
10. 山岸誠, 中野和民, 三宅在子, 矢持忠徳, 加賀美弥生, 包明久, 宇都宮與, 山口一成, 内丸薫, 渡邊俊樹: ATL 細胞における miR-31 発現低下による NF- $\kappa$ B の恒常的活性化機構. 第 50 回日本リンパ網内系学会総会, 2010 年 6 月 18-19 日, 新潟
11. 米倉健太郎, 東裕子, 河井一浩, 武田浩一郎, 神埼保, 高塚祥芝, 竹内昇吾, 徳永雅仁, 宇都宮與, 渡邊修, 高嶋博, 金蔵拓郎: Intravascular large B-cell lymphoma の診断のためのランダム皮膚生検の適応について. 第 50 回日本リンパ網内系学会総会, 2010 年 6 月 18-19 日, 新潟
12. 宇都宮與: 抗 CCR4 抗体 (KW-0761) 療法の ATL 治験. (シンポジウム 2 「ケモカイン〜ベンチからベッドサイドへ、ベッドサイドからベンチへ〜」) 第 75 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会,

- 2010年6月25-26日, 北九州
13. 矢持忠徳, 守田洋平, 矢持淑子, 佐々木陽介, 中内啓光, 内丸薫, 濱口功, 宇都宮與, 渡邊俊樹: 成人性 T 細胞性白血病における Tumor Initiating Cell 同定への試み. 日本がん分子標的治療学会第 14 回学術集会, 2010年7月6-8日, 東京
  14. Kannagi M, Kinpara S, Hasegawa A, Shimizu Y, Oiki H, Masuda T, Yamano Y, Utsunomiya A: Double control of viral expression by innate and acquired immunity in human T-cell leukemia virus type-I infection. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, Japan, August 22-27, 2010
  15. 宇都宮與, 中島美奈子, 窪田歩, 高崎能久, 坂江清弘, 東健, 松岡雅雄: HTLV-1 感染者における Helicobacter pylori 感染の検討. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  16. 窪田歩, 有水琢朗, 畠中成己, 徳永真弓, 徳永真弓, 徳永雅仁, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 宇都宮與: ATL 長期生存例における末梢血 HTLV-1 プロウイルス量-化学療法後長期寛解例と同種造血幹細胞移植例との比較-. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  17. 岩永正子, 渡邊俊樹, 宇都宮與, 内丸薫, 高起良, 緒方正男, 魚住公治, 岡山昭彦, 上平憲, 山口一成: HTLV-1 キャリアにおけるプロウイルス量分布の特性と ATL 進展因子: JSPFAD コホート研究. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  18. 山野嘉久, 佐藤知雄, 新谷奈津美, 安藤仁, 神奈木真理, 田中勇悦, 宇都宮與: HAM における IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>病原性 T 細胞の発生機構とその脊髄炎症病巣へのリクルート機構に関する解析. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  19. 浅沼里実, 中野和民, 山岸誠, 小川誠司, 山口一成, 宇都宮與, 渡邊俊樹: 成人 T 細胞白血病 (ATL) におけるリンパ球系特異的転写因子 Helios の発現異常. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  20. 吉盛利奈, 濱崎隆之, 岡本実佳, 宇都宮與, 馬場昌範: HTLV-1 感染者における CD70 発現解析. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  21. 佐藤妃映, 岡剛史, ABD AL-Kader Lamia, 孫旭, 神農陽子, 鷲尾佳奈, 高田尚良, 田村麻衣子, 村上一郎, 大内田守, 宇都宮與, 高橋聖之, 吉野正: HTLV-1 キャリアにおける DNA 異常メチル化と病態との関連. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  22. 新谷奈津美, 佐藤知雄, 神奈木真理, 田中勇悦, 宇都宮與, 山野嘉久: HTLV-1 関連脊髄症 (HMA) における HTLV-1 tax を介した IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>病原性 T 細胞発生機構の解析. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  23. 矢持忠徳, 守田洋平, 矢持淑子, 佐々木陽介, 渡辺信和, 内丸薫, 小川誠司, 宇都宮與, 渡邊俊樹: 成人 T 細胞性白血病における Tumor Initiating Cell の探索の試み. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  24. 川波克明, 浅沼里実, 山岸誠, 宇都宮與, 山口一成, 中野和民, 渡邊俊樹: ATL における転写因子 Helios の異常 isoform の機構解析. 第3回 HTLV -1 研究会, 2010年8月27-29日, 東京
  25. 山岸誠, 中野和民, 三宅在子, 加賀美弥生, 包明久, 宇都宮與, 山口一成, 内丸薫, 渡邊俊樹: ATL 細胞におけるエピジェネティックな異常による miR-31 の発現低下と NF- $\kappa$ B 活性化機構. 第69回日本癌学会学術総会, 2010年9月22日, 大阪
  26. 海野啓, 中川雅夫, 宇都宮與, 塚崎邦弘, 片山直之, 瀬戸加大: アレイ CGH にて明らかとなった急性型 ATLL と PTCL, NOS のゲノムプロファイルにおける類似性. 第69回日本癌学会学術総会, 2010年9月22日, 大阪
  27. 萩原剛志, 齊藤愛記, 宇都宮與, 渡邊俊樹, 山岡昇司: A20 は成人 T 細胞白血病細胞における NF- $\kappa$ B 依存性転写活性を増強する. 第69回日本癌学会学術総会, 2010年9月22日, 大阪
  28. 中野和民, 松原亜以子, 矢持忠徳, 宇都宮與, 山口一成, 内丸薫, 渡邊俊樹: ATL リスク・インディケーター遺伝子同定の試みと、ATL 発症における機能解析. 第69回日本癌学会学術総会, 2010年9月22日, 大阪
  29. 浅沼里実, 中野和民, 山岸誠, 小川誠司,



- 山口一成, 宇都宮與, 渡邊俊樹: 成人 T 細胞白血病における Helios のドミナントネガティブ型アイソフォームの過剰発現. 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010 年 9 月 22 日, 大阪
30. 矢持忠徳, 守田洋平, 矢持淑子, 佐々木陽介, 小川誠司, 宇都宮與, 渡辺信和, 浜口功, 内丸薫, 中内啓光, 渡邊俊樹: 成人性 T 細胞性白血病におけるがん幹細胞の同定への試み. 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010 年 9 月 22 日, 大阪
31. 玉井洋太郎, 長谷川温彦, 田野崎隆二, 高森絢子, 曾娜, 笹田亜麻子, 松岡雅雄, 宇都宮與, 崔日承, 鶴池直邦, 岡村純, 神奈木真理: ATL に対する骨髄非破壊的非血縁間骨髄移植後の HTLV-1 Tax 特異的 CTL 応答. 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010 年 9 月 22 日, 大阪
32. Tokunaga M, Haraguchi K, Tokunaga M, Ohno N, Utsunomiya A, Uto H, Tubouchi H: Clinical significance of serum hepatocyte growth factor level on adult T-cell leukemia-lymphoma. 第 72 回日本血液学会学術集会, 2010 年 9 月 24-26 日, 横浜
33. Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Kagami Y, Tsutsumi A, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Watanabe T: Loss of miR-31 links NF-κB activation in adult T-cell leukemia. 第 72 回日本血液学会学術集会, 2010 年 9 月 24-26 日, 横浜
34. Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimaru K, Koh K, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S, Yamaguchi K (JSPFAD investigator): HTLV-1 proviral load and the relation to disease progression in carriers: a nationwide cohort study. 第 72 回日本血液学会学術集会, 2010 年 9 月 24-26 日, 横浜
35. 徳永真弓, 窪田歩, 徳永雅仁, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 糸山貴浩, 牧野虎彦, 宇都宮與, 坪内博仁: 急性骨髄性白血病 (AML) に対する地固め療法における大量 Ara-C 療法の有効性の検討. 第 72 回日本血液学会学術集会, 2010 年 9 月 24-26 日, 横浜
36. Yamochi T, Morita Y, Yamochi T, Sasaki Y, Watanabe N, Ogawa S, Utsunomiya A, Hamaguchi I, Uchimaru K, Nakauchi H, Watanabe T: Search for cancer stem cells in ATL. 第 72 回日本血液学会学術集会, 2010 年 9 月 24-26 日, 横浜
37. 眞鍋香澄, 高松尚文, 丸塚浩助, 日高智徳, 中畑新吾, 前田宏一, 斉藤祐介, 濱崎誠, 一ノ瀬孝子, 岩田喬子, 畠山金太, 鶴飼由範, 岡山昭彦, 黒沢仁, 浅田祐士郎, 宇都宮與, 森下和広: CADM1 特異抗体を用いた ATLL (成人 T 細胞白血病・リンパ腫) 診断・治療法の開発. 第 72 回日本血液学会学術集会, 2010 年 9 月 24-26 日, 横浜
38. Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Okamura J: Antiviral effect of allo-SCT with RIC for ATLL: Short and long-term kinetics of HTLV-1 proviral load. The 1<sup>st</sup> ISCT Asia-Pacific Regional Meeting, Miyazaki, Japan, October 17-20, 2010

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

ATL 及び悪性リンパ腫に対する移植ソース別の同種移植解析

研究分担者：谷口 修一 国家公務員共済組合連合会虎の門病院 血液内科 部長  
和気 敦 国家公務員共済組合連合会虎の門病院分院 血液内科 部長

研究要旨

成人 T 細胞白血病(ATL)は HTLV-I 感染高齢者に発症する難治性の悪性リンパ腫 (ML) で、化学療法での長期生存例は少なく、同種造血幹細胞移植の有効性が示唆されている。近年、前処置を骨髄破壊的前処置から軽減する (ミニ移植) ことで、より高齢者でも同種造血幹細胞移植が可能となり、登録から移植までに時間がかからない臍帯血移植が急増しているが、ATL に対する同種移植のレジストリーデータ解析では臍帯血移植は有意に生存率が低い。

今回、当科で施行した ATL を含めた悪性リンパ腫(ML)全体に対する同種移植症例を移植ソース別に解析した。ML 計 209 例(ATL51 例)で、移植ソースの内訳は血縁間同種移植(rSCT)50(11)例、非血縁骨髄移植(uBMT)53(9)例、臍帯血移植(CBT)106(31)例であった。移植成績は、ML (非 ATL) 群の 3 年無再発生存率(PFS)で 32.5%(27.6-42.7)、ATL 群は 22.8%(9.8-31.7)、移植ソース別 3 年 OS は rSCT31.0%,u-BMT 50.3%, CBT20.3% (p<0.0001)と有意に CBT で不良だったが、OS に関する多変量解析では PS 不良(PS0-2vs3)と移植時病期(CR/PRvsPD/REF)だけが有意な予後因子で CBT は有意な予後不良因子ではなかった。ATL 群内解析でも全体では CBT が不良だったが CR/PR/SD の良好病期での生存率は移植ソース間で差を認めなかった(p=0.677)。よりよい移植時病期で移植に望めば ATL に対する臍帯血移植は良好な移植成績を得られる可能性がある。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病(ATL)に対する同種造血幹細胞移植(alloSCT)の有効性が示唆されている。中でも骨髄非破壊的移植 (ミニ移植) は、臓器障害を有する高齢者にも安全に施行可能なことが示されつつあるが、臍帯血を用いたミニ移植 (reduced intensity cord blood transplantation: RICBT)は高率かつ短期で移植ドナーを確保し得る同種移植法として期待される。

虎の門病院血液科では、フルダラビン、メルファランと低線量全身放射線照射(TBI)を軸に移植片対宿主病(GVHD)予防を変更しつつ、各種血液疾患に RICBT を施行してきたが ATL に対する成績は不良であった。今回、当院で施行した ATL を含めた悪性リンパ腫(ML)に対する同種移植成績を移植ソース別に解析し、ATL に対する臍帯血移植成績不良の要因を明らかにし、ATL に対する RICBT の可能性を再検討する。

B. 研究方法

2000 年 1 月から 2009 年 12 月までに当科で ATL を含めた ML に対して施行した同種移植症例 220 のうち、移植時 PS4 と活動性感染症例を除外した 209 例を対象とした。疾患内訳は、ATL51 例、HL11 例、中悪性度 B-NHL72 例、低悪性度 B-NHL45 例、T-NHL(非 ATL)31 例。年齢中央値は 54 才(18-79)。疾患病期は寛解期(CR)が 27 例、部分寛解期(PR)が 38 例、進行期(PD)が 144 例(68.9%)であった。移植ソースの内訳は血縁者間(rSCT)50 例、非血縁骨髄(uBMT)53 例、臍帯血(CBT)106 例であった。移植後観察期間が生存例中央値で 1720 日(109-2430)。3 年全生存率(OS)、無増悪生存率(PFS)を算出し、各々に患者背景や移植背景が及ぼす影響を検討した。

(倫理上の問題点に対する配慮)

本研究における臍帯血ミニ移植は臨床第 I/II 相試験であり、本療法の有効性と危険性について十分な説明を行い、文書で同意が得られた者についてのみ施行した。

## C. 研究結果

ML(非ATL)症例158例での1年/3年OSは、41.7%(95%CI: 33.8-49.6)/39.4%(31.5-47.2)、1年/3年PFSは39.4%(31.9-47.2)/32.5%(27.6-42.7)、ATL症例51例の1年/3年OSは、41.0%(26.1-55.9)/24.5%(10.1-38.9)、1年/3年PFSは、34.4%(22.4-41.8)/22.8%(9.8-31.7)で、両群間に有意な差は検出されなかった。移植ソース別1年/3年OSは、血縁39.9%/31.0%、非血縁骨髄53.9%/50.3%、臍帯血26.0%/20.3%で有意に臍帯血が不良だった( $p < 0.0001$ )。病期別にみると、CR/PR群では移植ソース別成績に差はなく( $p = 0.36$ )、PD群ではCBが不良( $p = 0.04$ )だった。OSに影響する因子の多変量解析では、移植前病期(CR/PR vs PD)と移植前Performance status(PS)(0-2 vs 3)が各々、 $p = 0.003$ 、 $p < 0.0001$ と有意な因子だったが、年齢、疾患(ATL vs 非ATL)、移植ソースはいずれも有意な予後因子として検出されなかった。

ATLでは、血縁( $n = 11$ )、非血縁骨髄( $n = 9$ )、臍帯血( $n = 31$ )のソース間で、年齢(49 vs 49 vs 56)、移植時病期、PSが臍帯血で不良で、前処置強度や診断から移植までの日数には差を認めなかった。OS、PFSとも臍帯血で有意に不良だったが、移植時病期がCR、PR、またはstable disease(SD)の群では、移植ソース間でOS( $p = 0.677$ )、PFS( $p = 0.716$ )とも差を認めなかった。

臍帯血移植は1例を除き全例がミニ移植であったが、GVHD予防法別にみると、観察期間中央値は220日とまだ短い、FK506+Mycophenolate mofetil (MMF)群ではOS、PFSとも50.0%と他の群(CsA単独 or FK506単独)に比べ良好だった。

## D. 考察

ATLは高齢者に多く、かつ極めて難治性のHTLV-Iがもたらす血液疾患である。なかでも急性型やリンパ腫型では化学療法での50%生存期間は最長の報告でも13ヶ月程度である。同種造血幹細胞移植は有望な根治的移植法であるが、岡村班で研究しているPBSCTでのミニ移植に比べ、CBTでのミニ移植は未だ満足すべき成績が得られず、本年報告されたレジストリーデータ解析でもCBTは生存に関して有意に予後不良な因子とされている。我々の単施設での検討でも、CBTは悪性リンパ腫全体においてもATLにおいても一見成績不良に見えるが、

今回の検討で、ATLにおけるCBT成績不良は、移植時病期やPSの影響が強い可能性が示唆された。過去に我々は、フルダラビン、メルファラン、全身放射線照射4~8Gyの前処置でCsAもしくはFK506単剤によるGVHD予防で進行期ATLを対象としたCBTを行ったが早期の治療関連死と晩期再発が多く、長期生存は10%以下であった。そこで最近我々は移植時期を移植時病期が良好な時期にGVHD予防もMMFで強化する試みを行っているが、短期的には生存率が向上している。移植時病期がよい状態でRICBTを行えば、早期の治療関連死亡は減少しており、晩期再発の増加がなければ有望な移植法と考える。

RICBTは、ドナーの安全性や移植コーディネータに要する期間が短いなど、明らかに有利な点があり、移植成績の向上が期待される。

## E. 結論

悪性リンパ腫(ATLを含む)に対する同種移植の成績比較から、より早期で全身状態の良い患者を選択できるように工夫すれば、臍帯血ミニ移植をATLの治療戦略のひとつとして位置づけられる可能性がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Waki F, Masuoka K, Wake A, Takahashi S, Takaue Y, Taniguchi S. et al. Feasibility of Reduced-intensity Cord Blood Transplantation as Salvage Therapy for Graft Failure: Results of a Nationwide Survey of 80 Adult Patients. Biol Blood Marrow Transplant. 2010
2. Masuoka K, Uchida N, Ishiwata K, Takagi S, Tsuji M, Yamamoto H, Seo S, Matsuno N, Wake A, Makino S, Yoneyama A, Taniguchi S. What is the upper age limit for performing allo-SCT? Cord blood transplantation for an 82-year-old patient with AML. Bone Marrow Transplant. 2010
3. Takagi S, Ota Y, Uchida N, Takahashi K, Ishiwata K, Tsuji M, Yamamoto H, Asano-Mori Y, Matsuno N, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Ohashi K, Taniguchi S. Successful engraftment after reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for myelofibrosis. Blood. Jul 29; 116(4): 649-52, 2010
4. Saito Y, Kitamura H, Hijikata A,

Tomizawa-Murasawa M, Tanaka S, Takagi S, Uchida N, Suzuki N, Sone A, Najima Y, Ozawa H, Wake A, Taniguchi S, Shultz LD, Ohara O, Ishikawa F. Identification of therapeutic targets for quiescent, chemotherapy-resistant human leukemia stem cells. *Sci Transl Med.*; 2(17): 17-9,2010

5. Morita-Hoshi Y, Mori SI, Soeda A, Wakeda T, Ohsaki Y, Shiwa M, Masuoka K, Wake A, Taniguchi S, Takaue Y, Heike Y. Identification of molecular markers for pre-engraftment immune reactions after cord blood transplantation by SELDI-TOF MS. *Bone Marrow Transplant.* Nov;45(11):1594-601,2010
6. Saito Y, Uchida N, Tanaka S, Suzuki N, Tomizawa -Murasawa M, Sone A, Najima Y, Takagi S, Aoki Y, Wake A, Taniguchi S, Shultz LD, Ishikawa F. Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML. *Nat Biotechnol.* 2010 Mar;28(3):275-80.
7. Nishida A, Yamamoto H, Ohta Y, Karasawa M, Kato D, Uchida N, Wake A, Taniguchi S. T-cell post-transplant lymphoproliferative disorder in a patient with chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic PBSC transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2010 Aug;45(8):1372-4.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

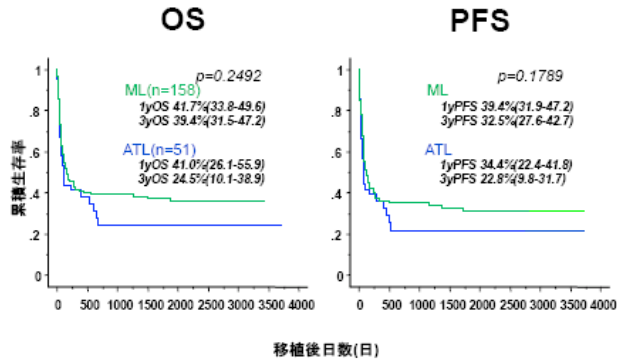
##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

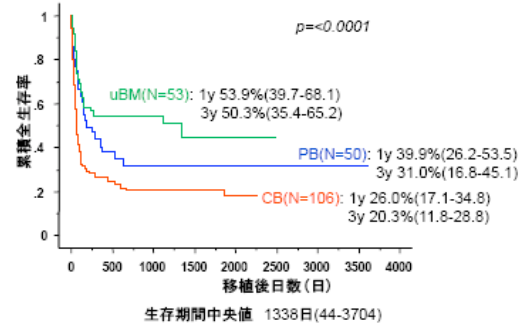
### 全症例 (n=209)の生存率



100723

平成22年度第1回腫瘍学研究会

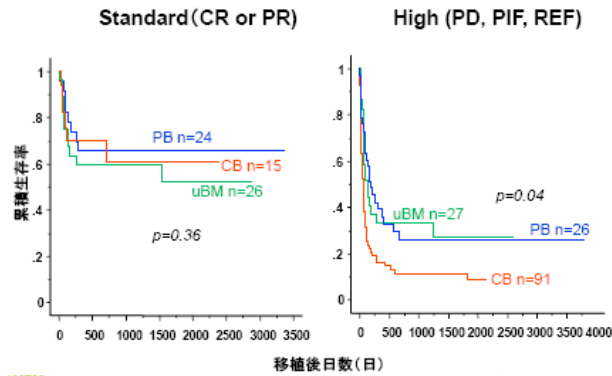
### 移植ソース別の全生存率



100723

平成22年度第1回腫瘍学研究会

### 病期(リスク)別にみた移植ソース別の全生存率



100723

平成22年度第1回腫瘍学研究会

### OSに影響する因子の多変量解析

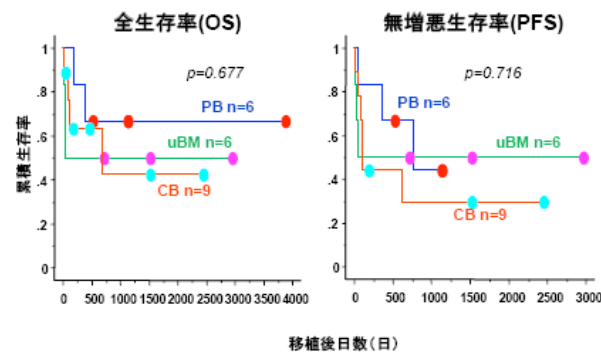
Factors	p	relative risk	95%CI
年齢: 55歳未満 vs 55歳以上	0.1111	1.241	0.840-1.833
疾患: 非ATL vs ATL	0.8070	1.130	0.710-1.797
病期: CR/PR vs PD/REF	0.003	2.817	1.422-5.579
PS: 0-2 vs 3	<0.0001	3.300	2.146-5.076
移植ソース: CB vs PB	0.7816	0.789	0.147-4.223
CB vs u-BM	0.1860	0.701	0.414-1.187

Other variables: 性別、フル/ミニ、TBI線量(8Gy以上)、HLA一致度

100723

平成22年度第1回腫瘍学研究会

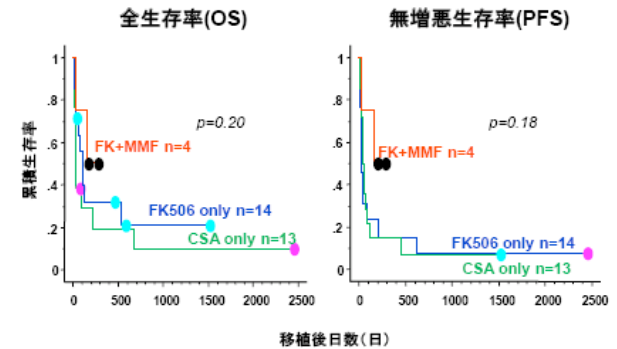
### 低リスク(CR,PR,SD)での移植ソース別ATL生存率



100723

平成22年度第1回腫瘍学研究会

### 臍帯血移植でのGVHD予防法別ATL生存率



100723

平成22年度第1回腫瘍学研究会

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 に対する同種造血幹細胞移植療法の成績向上に関する研究

研究分担者：重松 明男 北海道大学病院 検査輸血部 助教

**研究要旨**

ATL に対する同種造血細胞移植の有用性が報告されているが、未だ不明な点も多い。また、我々は北海道における良好な移植成績を報告してきたが、九州などの ATL 好発地帯と比較して病態が異なる可能性が考えられている。北海道大学病院および札幌北楡病院において同種移植を施行した 28 例の ATL 症例に対する後方視的解析を施行した。フォローアップ期間中央値 16 ヶ月で、3 年全生存率 58%、3 年無進行生存率 49%であった。死亡した 13 例中、9 例が非再発死亡であり、大きな問題であると考えられた。単変量解析において男性および移植前病態が PD であることが全生存率に関与する予後不良因子として抽出されたが、症例数が少ないため、確固とした結論を得るためには、さらなる症例の蓄積が必要である。

**A. 研究目的**

ATL に対する同種造血幹細胞移植の有用性を検討する。

**B. 研究方法**

北海道大学病院ならびに札幌北楡病院において 2000 年 10 月から 2010 年 4 月までの期間に同種造血幹細胞移植を施行された症例についての後方視的解析を施行した。

**（倫理面への配慮）**

本研究はデータベースを基に行った後方視的解析である。個人情報が入り込まないよう配慮した。

**C. 研究結果**

症例数は 28 症例で、年齢中央値は 57 歳。急性型は 14 例、リンパ腫型は 13 例であり、移植前の病態は CR が 16 例、PR が 8 例、PD が 4 例であった。ドナーは HLA 一致同胞が 13 例、非血縁ドナーが 15 例であった。骨髄破壊的移植が 9 例、骨髄非破壊的移植が 19 例であった。好中球生着は 96%の患者で認められた。急性 GVHD は 67%で認め、慢性 GVHD は 87%の患者で認められた。フォローアップ期間中央値 16 ヶ月で、3 年全生存率 58%、3 年無進行生存率 49%であった。死亡した 13 例中、4 例が ATL、9 例が非再発死亡であった。

**D. 考察**

我々の施設では ATL に対する良好な移植成績を報告してきたが、移植後非再発死亡が 35.5%

と大きな問題である。単変量解析において、男性および移植前病態が PD であることが全生存率、無進行生存率の両方に関与し、急性 GVHD(GradeII-IV)および GVHD 予防にタクロリムスを用いることが、無進行生存率のみに関与する予後不良因子として抽出された。我々は非血縁の HLA アリル不一致ドナーに対してタクロリムスを用いており、HLA 一致度の違いや GVHD に関連している可能性が考えられる。男性患者の移植予後に関しては我が国からの報告 (Hishizawa M, et al. Blood.2010 26;116(8):1369-76.)とも一致しており、今後の検討課題と考えられた。

**E. 結論**

北海道大学病院および札幌北楡病院において同種移植を施行した 28 例の ATL 症例の移植成績を解析した。非再発死亡が大きな問題であり、男性患者への移植および GVHD に対する予防法などが今後の課題と考えられた。

**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

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

臨床試験の計画と解析，ATL レトロスペクティブデータ

研究分担者：山中 竹春 九州がんセンター 臨床研究部  
腫瘍統計学研究室 研究員

**研究要旨**

本研究班でこれまでに実施した ATL の血縁者間骨髄移植に関する 2 つの臨床試験データの統合解析をおこなった。

**A. 研究目的**

本研究班でこれまでに実施してきた ATL に対する RIST を用いた血縁者間骨髄移植の 2 つの臨床試験データは世界で初めて実施された ATL に対する移植治療の前向き試験データである。これらを統合したレトロスペクティブ解析をおこなった。

**B. 研究方法**

**血縁間骨髄移植の臨床試験データの解析：**

本研究班でこれまでに実施した血縁者間骨髄移植に関する RIST の臨床試験データ（第 1 期，第 2 期計 29 例）に関するレトロスペクティブ解析をおこない，生存時間、ウイルス量の経時的变化などを探索した。

**C. 研究結果**

血縁間骨髄移植の臨床試験データの解析：登録された 29 例に対する検討では，11 人が原病死、8 人が治療関連死であった。対象症例の中でもっとも遅く死亡が観測されたのは登録から 26 ヶ月後であった。29 人の 5 年生存率は 34%（95%CI：18–51%）、追跡期間中央値は 82 ヶ月であった。その他、生存症例の臨床背景について詳細な集計をおこなった。

生存している 10 例における HTLV-1 のウイルス量の経時的变化についても要約した。ATL は HTLV-1 感染が原因で発症する疾患であるため、HTLV-1 ウイルス量の経時的变化については多くの研究者が興味を寄せるところであるが、前向き研究として、その変化を検討したデータはない。今回、移植後の長期生存 10 例に対する検討をおこなった結果、移植後、長期生存例でもウイルス量の高値の状態が続く症例、逆にウイルス量が減少して検出限界下のレベルに至る症例が存在することが判明した。さら

に、いったん検出限界以下のレベルになるものの、再びウイルス量の増加が見られる症例もいた。今回の検討ではこの 3 通りであるが、多様なパターンを示していることが判明したので今後のさらなる研究が必要である

**D. 考察**

血縁者間の骨髄移植によって、一部の症例に疾患治癒と思われる状態が観察されたのは有望な結果であるといえる。しかしながら、移植関連死亡率は高いことは今後の重大な検討課題である。また、移植が実施可能な症例は限られており、また ATL という疾患の特徴から前処置を RIST とした非血縁者間での移植の実施可能性を検討することは重要である。ウイルス量の経時的变化データと併せて現在本研究班で実施中の臨床試験の結果を待ちたい。

**E. 結論**

29 人の 5 年生存率 34% (95%CI: 18–51%) は治癒が困難と認識されていた ATL にとっては有望な結果と考えられる。今後、ATL に対する治療戦略へのさらなる展望が得られることが期待される。

**G. 研究発表**

**1. 論文発表**

1. [Choi I](#), Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J. Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials. Bone Marrow Transplant 46. 116-118, 2011

**2. 学会発表**

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 に対する骨髄非破壊的移植法におけるプロウイルス解析

研究分担者：佐藤 賢文 京都大学ウイルス研究所 助教  
安永 純一朗 京都大学ウイルス研究所 講師

研究要旨

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1) は感染後、一部のキャリアに成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) を引き起こす。ATL は予後不良な血液悪性腫瘍であり、治療法の開発が望まれている。白血病細胞ゲノムに組み込まれた HTLV-1 プロウイルスは ATL 細胞に残る唯一の感染の証拠であり、HTLV-1 プロウイルスの解析は残存 ATL 細胞の検出のみならずウイルス発がん機構を明らかにすることも期待される。

造血幹細胞移植後に髄液中のリンパ球数の増加を認めた症例が存在したため、微量の髄液中リンパ球からでも HTLV-1 の組み込み部位を標的として微小残存腫瘍を検出する検査方法を確立した。

また一方で、ATL 細胞中のプロウイルス全塩基配列を決定し nonsense 変異が多数存在することを明らかにした。変異は tax, rex, p12, p30, p13 など殆ど全てのウイルス遺伝子に存在したが、HTLV-1 bZIP factor (HBZ) 遺伝子のみには検出されなかった。この結果から ATL 発がん過程においてウイルス遺伝子 HBZ の重要性が示唆された。

A. 研究目的

ATL が独立した疾患として提唱され、その原因ウイルスである HTLV-1 が発見され 30 年が経過したが ATL の治療成績は不良なままであった。しかし、最近の血液幹細胞移植はその治療成績を大きく改善しつつある。ATL 細胞に残る唯一の感染の証拠であるプロウイルスを解析し、その有効性の機序を明らかにすることが本研究の目的である。

B. 研究方法

【対象】症例は研究班プロトコールに従い同種末梢血幹細胞移植が施行された症例に加えて HTLV-1 キャリア、ATL 症例を用いた。

【方法】末梢血、リンパ節あるいは髄液中リンパ球からゲノム DNA を抽出し、HTLV-1 プロウイルスを増幅し、その全塩基配列を決定するとともに、一部の ATL 症例においては ATL 細胞におけるプロウイルスの組み込み部位を決定した。

(倫理面への配慮)

本研究は京都大学医学研究科「医の倫理委員会」の承認を得て行われる。検体は非連結匿名化を行い、解析している。

C. 研究結果

1) 造血幹細胞移植後に髄液中のリンパ球数の増加を認めた症例を経験した。そこで髄液中リンパ球をトリ細胞株と共に遠沈回収し DNA を抽出した。HTLV-1 の組み込み部位を標的として微小残存腫瘍を PCR で検出する検査方法を確立した。

2) ATL 症例における HTLV-1 プロウイルス配列

ATL 症例におけるプロウイルスをタイピングし、5', 3' LTR を有するプロウイルスを増幅し direct sequence 法で塩基配列を決定した。その結果、gag, pol, env の構造遺伝子だけでなく、tax, rex の調節遺伝子、p12, p13, p30 のアクセサリ遺伝子に多くの non-sense 変異、欠失が見出されたが、HBZ 遺伝子には全くそのような変異・欠失は認められなかった。この結果は HBZ 遺伝子が ATL 細胞の増殖に極めて重要であるという我々の以前の結論を支持している。tax 遺伝子には 60 例中、10 例でナンセンス変異、欠失等を認めた。

ナンセンス変異は同定された 29 変異のうち、27 変異がトリプトファンに起こっていた。変異部分の塩基配列をみると TGG が TGA, TAG というストップコドンに変わっていた。この G to A



変異はレトロウイルスの逆転写反応の際に APOBEC3G によって起こる変異と一致しており、APOBEC3G の関与が疑われた。全プロウイルス中の塩基配列の解析から G to A 変異は TGG, CGG を標的にしており APOBEC3G の標的配列と一致していた。

#### D. 考察

ATL 細胞は組織浸潤性が高く様々な臓器に浸潤することが知られている。特に中枢神経系への浸潤は、生命予後や患者の QOL の低下に大きな影響を与えることから浸潤の有無に関して正確に診断し、適切なタイミングで必要な治療を行うことが重要である。しかしながら、髄液中の細胞数が少ない段階では、リンパ球を回収するために遠心して細胞をペレットにすることが難しく、回収効率が低いと言う問題が考えられる。今回その問題を克服するために、回収した髄液とトリ細胞株とを混合し遠心することで、効率的に細胞を回収することが出来た。回収細胞から抽出した DNA にはヒト DNA の存在が確認されたが、ATL 細胞、感染細胞は検出限界以下であった。今回確立した髄液中の少ないリンパ球回収法と、腫瘍細胞特異的な高感度 PCR 検出法とを組み合わせることで、ATL 細胞の中枢神経浸潤の有無に関して、より正確な診断が可能であった。

今回の解析から HTLV-1 プロウイルスのナンセンス変異は APOBEC3G によって生じていることが示唆された。APOBEC3G はレトロウイルスの逆転写の段階でナイマス一本鎖 DNA をターゲットとして C-to-T 変異を起こす。このためプラス鎖では G-to-A 変異を起こし、ナンセンス変異をつくりウイルスの複製を阻害する。HTLV-1 プロウイルスの G-to-A 変異部位は APOBEC3G の標的配列と一致しており、これらの G-to-A 変異が逆転写の段階で APOBEC3G によって発生したことを示している。つまり ATL 患者、HTLV-1 キャリアの HTLV-1 プロウイルスに認められたナンセンス変異は逆転写の段階で生じていることが示唆された。

ATL 症例では HBZ 遺伝子にはナンセンス変異が認められなかった。これは APOBEC3G が逆転写の過程でマイナス鎖をターゲットとするためにマイナス鎖にコードされる HBZ にはナンセンス変異を起こさないためである。加えて HBZ コーディング領域には APOBEC3G の標的配列が少なくミスセンス

変異も起こりにくいことが示された。

#### E. 結論

ATL 細胞の中枢神経浸潤の有無について早期診断が可能な検出系を確立した。

今年度の結果から HBZ は全ての症例で保存されていたことから HBZ 遺伝子の発がん過程における重要性が示唆された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Satou Y and Matsuoka M. HTLV-1 and the host immune system: How the virus disrupts immune regulation, leading to HTLV-1 associated diseases. *J Clin Exp Hematopathol*, 50(1):1-8, 2010
2. Fan J, Ma G, Nosaka K, Tanabe J, Satou Y, Koito A, Wain-Hobson S, Vartanian JP, Matsuoka M. APOBEC3G generates nonsense mutations in human T-cell leukemia virus type 1 proviral genomes in vivo. *J Virol*. 4(14):7278-87, 2010
3. Yasunaga J, Jeang KT. Cellular checkpoint dysregulation and HTLV-1 transformation. In: Lever A, Jeang KT, Berkhout B, eds. RECENT ADVANCES IN HUMAN RETROVIRUSES: PRINCIPLES OF REPLICATION AND PATHOGENESIS. Hackensack, NJ: World Scientific Publishing; 2010.
4. Satou Y, Yasunaga J, Zhao T, Yoshida M, Miyazato P, Takai K, Shimizu K, Ohshima K, Green PL, Ohkura N, Yamaguchi T, Ono M, Sakaguchi S, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor Induces T-Cell Lymphoma and Systemic Inflammation In Vivo. *PLoS Pathog*, 7; e1001274, 2011.

##### 2. 学会発表

1. 菅田謙治、佐藤賢文、原英樹、光山正雄、松岡雅雄：HBZ expression in CD4+ T cells impairs cell-mediated immunity against *Listeria monocytogenes*：第 72 回日本血液学会学術集会、横浜、2010 年 9 月 24-26 日
2. 佐藤賢文、Jun Fan、馬広勇、野坂生郷、田邊順子、松岡雅雄：APOBEC3G generates nonsense mutation in HTLV-1 proviral genome in vivo：第 72 回日本血液学会学術集会、横浜、2010 年 9 月 24-26 日

3. 松岡雅雄、佐藤賢文、安永純一朗 : The HTLV-1 bZIP Factor gene is responsible for leukemogenesis of adult T-cell leukemia : 第 72 回日本血液学会学術集会、横浜、2010 年 9 月 24-26 日
4. 中西梓、佐藤賢文、松岡雅雄 : HBZ はアポトーシス促進性分子である Bim の発現を抑制しアポトーシスを阻害する : 第 69 回日本癌学会学術総会、横浜、2010 年 10 月 22-24 日
5. 佐藤賢文、安永純一朗、趙鉄軍、大島孝一、松岡雅雄 : HTLV-1 bZIP Factor のトランスジェニックマウスは慢性炎症性疾患と T 細胞リンパ腫を起こす : 第 69 回日本癌学会学術総会、横浜、2010 年 10 月 22-24 日
6. 趙鉄軍、佐藤賢文、今村健志、松岡雅雄 : HTLV-1 bZIP factor はコアクチベーター p300/CBP を介して TGF-beta シグナルを亢進する : 第 69 回日本癌学会学術総会、横浜、2010 年 10 月 22-24 日
7. 中西梓、佐藤賢文、松岡雅雄 : HBZ はアポトーシス促進性分子である Bim の発現を抑制しアポトーシスを阻害する : 第 69 回日本癌学会学術総会、横浜、2010 年 10 月 22-24 日
8. 佐藤賢文、松岡雅雄 : HTLV-1 bZIP factor による T 細胞発がん機構 : 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月 7-9 日
9. 菅田謙治、佐藤賢文、松岡雅雄 : HBZ 発現は IFN-g 産生を抑制し、HSV-2 感染に対する細胞性免疫を障害する : 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月 7-9 日
10. 田口奈々絵、佐藤賢文、Paola Miyazato、吉田美香、松岡雅雄 : HTLV-1 bZIP factor による炎症惹起機構 : 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月 7-9 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

ATL に対する骨髄非破壊的移植療法の検討

研究分担者：崔 日承 九州がんセンター 血液内科 医師

**研究要旨**

成人 T 細胞白血病リンパ腫（ATL）は化学療法のみでは治癒困難であるが、近年同種造血細胞移植により治癒が得られることが明らかにされつつある。しかし、適切なドナーが得られない場合も多い。我々は ATL の患者に適切なドナーが得られない中、臍帯血をドナーソースとして選択したが、生着が得られ、救援療法として、HLA 不一致血縁からの移植を行い、疾患の寛解を維持し得た症例を経験した。残念ながら寛解期に感染症により死亡したが、今後の治療研究として検討する必要があると考えられた。

**A. 研究目的**

成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATL)は化学療法のみでは治癒困難であるが、近年同種造血細胞移植により治癒が得られることが明らかにされつつある。しかし、発症年齢が高齢である本疾患においては、骨髄破壊的前処置を用いた造血細胞移植療法の適応は限られる。そこで本研究班ではこれまで一貫して ATL を対象とした骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血細胞移植の安全性、有効性を検証して来た。現在、HLA 一致血縁の末梢血幹細胞または HLA 一致の非血縁骨髄をドナーとした多施設共同臨床試験が進行中で、症例集積中である。しかし、適切なドナーが得られない場合も多く、ドナーソースの拡大は避けられない問題となっている。ATL に対する HLA 一致血縁ドナー、HLA 一致非血縁ドナー以外のドナーを用いた造血細胞移植においては日常診療においてすでに行なわれている部分もあるが、安全性、有効性が十分に評価されているとは言い難い。我々は ATL の患者に適切なドナーが得られない患者に対し、他のドナーソースを用いて移植を行った。

**B. 研究方法**

52 歳女性。ATL 急性型の患者。臍帯血をドナーソースとして選択し、同種造血細胞移植を行った。

（倫理面への配慮）同種移植の危険性について十分に説明し、同意を得た。

**C. 研究結果**

TBI+CY の骨髄破壊的前処置を用いて臍帯血移植を行ったが、移植片拒絶(primary graft

failure)であった。そこで、HLA 2 座不一致の弟をドナーとして同種末梢血間細胞移植を施行。生着が得られ、ATL は完全寛解となった。安定したドナーキメリズムを得たが、合併症であった C 型肝炎が肝硬変に進展。寛解期に感染症と思われるイベントにて死亡された。

**D. 考察**

十分な移植前処置にも関わらず臍帯血は拒絶された。しかしその後に行なった HLA 不一致血縁間移植は生着を得た。しかし生着については単にドナーソースの違いだけでなく、前処置や移植時の患者の状態も考慮し、慎重に評価する必要がある。

**E. 結論**

ドナーソースの拡大は急務である。しかし、安全性の評価が十分とは言えず、今後は臨床研究として前方視的に検証する必要がある。

**F. 健康危険情報**

HBV に比し、HCV も移植時のリスクとして検討する必要があるかもしれない。

**G. 研究発表**

**1. 論文発表**

1. [Choi I](#), Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J. Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials. Bone Marrow Transplant 46. 116-118, 2011

## 2. 学会発表

1. 崔日承 本多絵美 宮下要 油布祐二  
鵜池直邦 臍帯血移植後の拒絶に対して  
HLA 二座不一致末梢血幹細胞移植を行な  
った成人 T 細胞白血病・リンパ腫の一例  
第 32 回日本造血細胞移植学会総会 2010  
年 2 月 19 日 浜松

## 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

成人 T 細胞白血病（ATL）に対する HTLV-I Tax 特異的 T 細胞応答賦活化  
ペプチドパルス樹状細胞を用いた新規免疫療法第 I 相臨床試験

研究分担者：末廣 陽子 九州がんセンター 血液内科 医長

研究要旨

成人 T 細胞白血病（ATL）移植症例の中には移植片対ATL効果(GV-ATL)が観察される症例が認められATLに対する免疫療法の可能性が注目されている。本研究では、既治療例のATLに対してTax特異的細胞傷害性T細胞エピトープペプチドを添加した成熟自己樹状細胞を投与し、抗ウイルス免疫効果を誘導することで抗腫瘍効果を得ることを目的としている。新規治療法開発のための臨床試験計画、樹状細胞調整における標準作業手順書作成、臨床試験開始のための登録システムの立ち上げを推進した。

A. 研究目的

本研究班の成人 T 細胞白血病（ATL）同種造血幹細胞移植症例での免疫学的解析で移植片対ATL 効果(GV-ATL)が観察される症例が認められ、HTLV-1 を標的にした Tax 特異的 CTL 応答を賦活する免疫療法はATLの治療に貢献できるものと期待されている。本臨床試験は、新規治療法開発を目的に既治療例のATL患者に対して、Tax ペプチドパルス成熟自己樹状細胞を投与し、抗ウイルス免疫効果を誘導することで抗腫瘍効果を期待する。本臨床試験は、樹状細胞用量漸増試験の安全性を検証する第 I 相臨床試験とし、樹状細胞製造の実現可能性、投与された患者における Tax 特異的細胞傷害性 T 細胞応答および臨床効果についても検討する計画である。

B. 研究方法

HLA-A\*0201、HLA-A\*2402、HLA-A\*1101 のいずれかを有する既治療例のATL患者を対象に、アフエレーシスによって得られた末梢血単核球より接着細胞を GM-CSF、IL-4、逆転写酵素阻害剤（zidovudine）添加下で分化誘導後、TNF-a、KLH、OK432 で成熟化させた樹状細胞に Tax ペプチドをパルスする。得られた樹状細胞は、出荷基準を確認後（生細胞数、表面形質）、2週毎に計3回皮下投与する。本臨床試験の主要エンドポイントとして Tax ペプチドパルス樹状細胞ワクチン投与の安全性の検討、副次エンドポイントとしてATL患者における樹状細胞製造の実現可能性、Tax 特異的 T 細胞応答の誘導、抗ウイルス(HTLV-1)効果、抗白血病（腫瘍）効果を検討する。

（倫理面への配慮）

本臨床試験は、各共同施設での倫理委員会の承認を取得している。

C. 研究結果

臨床試験実施に向けて臨床試験実施計画書、患者説明および同意書を作成し、九州大学病院倫理委員会の承認を取得。また樹状細胞調整における前臨床試験より得られた知見から、標準作業手順書を作成。臨床スケールに沿った大量細胞調整を行う上での問題点を検証するため、健常人ドナーからのアフエレーシス法によって得られた検体で同一工程の安全性、適格性の検証を実施している。

D. 研究発表

1. 論文発表

1. Jean-Eric Ghia, Nan Li, Huaqing Wang, Suehiro Y., Jacques Mallet and Waliul I Khan Serotonin activates dendritic cell function in the context of Gut Inflammation AJP 2010 (in press)
2. Inoue T, Sugiyama D, Kurita R, Oikawa T, Kulkeaw K, Kawano H, Miura Y, Okada M, Suehiro Y., Takahashi A, Marumoto T, Inoue H, Komatsu N, Tani K. APOA-1 is a Novel Marker of Erythroid Cell Maturation from Hematopoietic Stem Cells in Mice and Humans. Stem Cell Rev. 2010 Apr 8. [E pub]
3. 村橋（伊賀）睦了、土方康基、末廣陽子、他. 抗腫瘍免疫療法における新戦略. 臨床血液 2010 (in press)

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 に対する臍帯血移植の治療成績の解析

研究分担者：福島 卓也 長崎大学病院 血液内科 講師

研究要旨

長崎県における成人T細胞白血病/リンパ腫（ATL）に対する臍帯血移植の治療成績を解析した。対象は長崎県の3移植施設でCBTを施行した27ATL症例。年齢中央値：52(41-63)歳、急性型/リンパ腫型：17/10、移植時寛解/非寛解：16/11、骨髄破壊的前処置/非破壊的前処置：9/183であった。3年全生存率は31.4%、解析の時点で16例が死亡しており、うち11例が移植後6か月以内の死亡であった。そしてその死因は感染症6例、多臓器不全2例、再発3例であった。移植後2年以上の長期生存例が4例得られており、それらはいずれも骨髄非破壊的前処置による症例であった。ATLに対するCBTは現時点では移植関連死亡の危険性の高い治療法であるが、移植関連毒性を軽減するための工夫により治療成績の向上が得られる可能性があると考えられる。

A. 研究目的

成人T細胞白血病/リンパ腫(ATL)に対しての血縁者間および非血縁者間同種造血幹細胞移植(allo-HCT)が一定の治療効果をもたらすことは当班の研究を通して明らかになりつつある。一方ATLに対する臍帯血移植(CBT)については移植関連死亡、特に感染症による死亡のリスクが高いことが報告されており、有効性に関する評価は未だ定まっていない。ただ移植法の工夫、補助療法の進歩により CBT 後の長期生存例も観察されるようになってきている。

長崎大学病院とその関連病院で施行されたATL に対する CBT に関して後方視的解析を行った。

B. 研究方法

2004年10月～2010年7月に長崎大学病院とその関連移植2施設（佐世保市立総合病院、国立病院長崎医療センター）で CBT が施行されたATL27症例を対象に後方視的解析を行った。

（倫理面への配慮）

患者データは、匿名化番号にて収集され、個人が直接同定される情報は含まないよう配慮した。また、研究中に個人情報漏洩することの内容十分に注意した。

C. 研究結果

年齢中央値：52（41-63）歳、男/女：18/9、急性型/リンパ腫型：17/10、移植時寛解/非寛解：16/11、骨髄破壊的移植/治療強度を減弱した移

植(RIST)：9/18。全症例の3年生存率：31.4%。解析の時点で16例が死亡しており、10例が非寛解例であった。また移植後12か月以内の死亡が14例で、死因は感染症7例、多臓器不全2例、再発5例であった。そして6か月以内の早期死亡は11例で死因は感染症6例、多臓器不全2例、再発3例であった。移植後2年以上の長期生存例が4例得られ、寛解3例、非寛解1例であった。前処置法はいずれもfludarabine+melphalan+2～4Gy TBIであった。

D. 考察

現時点では、ATL に対する CBT は依然として早期の移植関連死亡の多い治療法とみなされる。ただ4例で長期生存が得られ、うち3例が寛解例であったこと、いずれも RIST であったことは注目すべき点と思われる。今後移植関連毒性を軽減するための工夫を加えた移植法の開発により治療成績の向上が得られる可能性があると考えられる。

E. 結論

ATL に対する CBT は移植関連死亡が多いが、長期生存例も観察されており、今後至適移植法あるいは補助療法の確立を目指して症例を蓄積していく必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ishitsuka K, Fukushima T, Tsukasaki K, Tobinai K.: Is Zidovudine and Interferon-Alfa

the Gold Standard for Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma? J Clin Oncol. 2010 Oct 4. [Epub ahead of print]

2. Ando K, Miyazaki Y, Sawayama Y, Tominaga S, Matsuo E, Yamasaki R, Inoue Y, Iwanaga M, Imanishi D, Tsushima H, Fukushima T, Imaizumi Y, Taguchi J, Yoshida S, Hata T, Tomonaga M: High expression of 67 kDa laminin receptor relates to the proliferation of leukemia cells and increase the expression of GM-CSF receptor. Exp Hematol, in press

## 2. 学会発表

1. 糸永英弘、田口潤、堀尾謙介、今泉芳孝、今西大介、吉田真一郎、福島卓也、波多智子、宮崎泰司：骨髓線維化を伴った造血器悪性腫瘍3例に対する骨髓非破壊的臍帯血移植. 第32回日本造血細胞移植学会総会 プログラム・抄録集 p235.2010
2. 牧山純也、田口潤、対馬秀樹、糸永英弘、今泉芳孝、今西大介、福島卓也、波多智子、塚崎邦弘、宮崎泰司、石松祐二、林徳眞吉：Progressive metastatic pulmonary calcification associated with adult T-cell leukemia/lymphoma(ATL). 臨床血液, 51(9),p1148,2010
3. 田口正剛、田口潤、今西大介、今泉芳孝、波多智子、福島卓也、塚崎邦弘、宮崎泰司：Coexistence of renal AL amyloidosis and gastrointestinal AA amyloidosis in multiple myeloma patient. 臨床血液,51(9),p1177,2010
4. 福島卓也、森内幸美、吉田真一郎、糸永英弘、田口潤、宮崎泰司：第33回日本造血細胞移植学会総会：長崎県における成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)に対する臍帯血移植(CBT)の治療成績、2011
5. 松尾真稔、福島卓也、谷口広明、牧山純也、糸永英弘、田口潤、波多智子、宮崎泰司：第33回日本造血細胞移植学会総会：肺真菌症に対し liposomal Amphotericin B (L-AMB) 予防投与により同種移植(allo-HSCT)を施行し得た ALL2 症例、2011

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

同種造血幹細胞移植後の抗白血病効果を促進する試み

研究分担者：豊嶋 崇徳 九州大学 遺伝子細胞療法部 准教授

**研究要旨**

同種造血幹細胞移植後の白血病再発を抑制する移植片対白血病（GVL）効果を増強する新たなメカニズムについて検討した。ドナーT細胞はアロ抗原を認識して活性化され、アロ抗原を発現した正常細胞に対しGVHDを誘導し、同じくアロ抗原を発現した白血病に対しGVL効果を発揮する。このドナーT細胞が多量のアロ抗原に暴露され続けることによりT細胞疲弊を起こし、GVL効果を喪失し白血病再発が起こることが判明した。このT細胞疲弊にはT細胞上のPD1と標的細胞上のPD-L1分子の相互作用が関与しており、これを阻害することで喪失したGVL効果が部分的に回復した。本研究成果は移植後白血病再発の新たな分子メカニズムを世界に先駆けて示すものである。

**A. 研究目的**

本研究班の今までの臨床成績から明らかになった、成人T細胞性白血病（ATL）に対する同種造血幹細胞移植の主たる課題は、移植後の再発率が高いこと、移植関連合併症の頻度が高いことである。この再発のメカニズムとして、白血病細胞側の耐性獲得が指摘され、graft-versus-leukemia (GVL)効果のエフェクターであるT細胞側の要因はあまり注目されていない。われわれはGVL効果の喪失が起こるT細胞側の要因とそのメカニズムについて検討を行った。

**B. 研究方法**

ドナーT細胞を活性化するアロ抗原が樹状細胞上に発現するが、graft-versus-host disease (GVHD)の標的細胞である正常上皮細胞には発現しないキメラマウスを作成した。これをレシピエントとして全身放射線照射後に白血病細胞を投与し、骨髄移植を行った。その後の白血病死亡率と、ドナーT細胞の経時的な機能をモニターした。また肝臓におけるPD-L1の発現もモニターした。

**（倫理面への配慮）**

本研究は九州大学動物実験施設の承認を得ている。

**C. 研究結果**

移植後にはドナーT細胞はキメラマウス、コントロールマウスともに樹状細胞が発現するアロ抗原によって同様に活性化した。T細胞は

その後標的臓器に浸潤し、コントロールでは上皮細胞を攻撃していくが、T細胞-上皮細胞相互作用によってそれぞれ、PD1, PD-L1の発現が経時的に亢進し、CD8+ T細胞のサイトカイン産生能、細胞障害活性の減弱がみとめられた。一方、キメラマウスにおいてはCD8+ T細胞はアロ抗原の持続的な刺激を受けず、CD8+ T細胞の機能減弱はみられず、細胞障害活性を維持していた。その結果、キメラマウスでは白血病死亡率の有意な増加がみられた。ついで、このキメラマウスにおいて抗PD-L1抗体を投与し、PD1/PD-L1経路を阻害したところ減弱したCD8+ T細胞の機能回復と白血病死亡率の部分的な軽減がみられた。

**D. 考察**

レシピエント上皮細胞の発現するアロ抗原の持続的な刺激によってエフェクターT細胞の疲弊が誘導され、GVLが喪失し、白血病再発がおこる新たなメカニズムが証明された。

**E. 結論**

T細胞疲弊(T cell exhaustion)が、移植後白血病細胞再発の新たなメカニズムであることを世界に先駆けて証明した。



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

Multi-color FACSによる末梢血 ATL 細胞の評価

研究分担者：内丸 薫 東京大学医科学研究所附属病院 血液腫瘍内科 准教授

研究要旨

末梢血中ATL細胞の正確な評価を行うためにMulti-color FACSによる解析系の開発を行った。ATL患者末梢血単核球をCD14により単球をゲートアウトし、CD3/4陽性細胞にゲートをかかけたT細胞集団をCD3/7展開することによりCD3dim/CD7low集団として90～99%の純度でATL細胞を検出することが可能であった。この系を用いることにより正確に末梢血中ATL細胞数を評価することが可能であり、骨髄移植施行時の病勢のコントロール状態の把握に有用であると考えられた。

A. 研究目的

末梢血中のATL細胞数は、急性型ATLの治療効果評価の重要な指標であるが、境界域の異型性の腫瘍細胞の形態診断はしばしば困難であり、治療効果の評価に不確実性を残す。今年度の研究ではmulti-color FACS(以下HAS)を用いた客観的なATL細胞の評価系の検討を行う。この方法を用いて化学療法による移植前の病勢コントロール状態の正確な評価を行う。

B. 研究方法

当科に入院中の急性型ATL症例を対象にインフォームドコンセントを得て、末梢血を採取、単核球を分離後、PE-CD7、PE-Cy7-CCR4、APC-CD25、APC-Cy7-CD3、Pacific Blue-CD4、Pacific Orange-CD14で染色しFACS Ariaで解析した。CD14で単球をゲートアウトした後、CD3/4でCD4陽性T細胞にゲートをかけ、CD3/7で展開した。この解析で得られたCD7high/CD3High、CD7dim/CD3dim、CD7low/CD3dimの各集団をソーティングし、HTLV-1プロウイルス量をReal time PCRで定量、inverse PCR、FACSによるTCR Vβ レパトア解析によりクローナリティを解析した。一部の症例は治療経過に伴うFACSパターンの変化を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針に則り東京大学医科学研究所倫理委員会の審査承認(承認番号22-3-0518)のもとに被験者から文書による説明と同意を得て遂行された。

C. 研究結果

当科に入院した14例の急性型症例を対象にHASによる解析を施行した。正常人コントロールではCD4陽性T細胞はCD7/3 highがmajor populationであるが、急性型ATLではCD7low/CD3dimがmajor populationであり、一部CD7dim/CD3dimおよびCD7high/CD3dimに分布した。このCD7lowの集団はプロウイルス量定量によりほぼ100%HTLV-1感染細胞であった。Inverse PCRによる解析の結果majorなクローナルバンドが検出され、FACSによるTCR Vβレパトア解析の結果、この集団は90～98%が同一のVβを使用しており、純度の高いATLの腫瘍細胞集団を検出していると考えられた。Inverse PCRにより、CD7dimの集団にCD7lowと同一サイズのバンドが見られたが、TCR Vβレパトア解析では、CD7lowの集団と同一のVβを使用する細胞は10%程度であった。

14例中10例においては治療経過に伴うHASの変化を検討した。治療に反応して病勢が安定していると思われる症例ではCD7lowの集団が減少し、CD7dim、highの集団が増加していた。

D. 考察

我々の開発したmulti-color FACSの解析系(HAS)は、CD7low/CD3dim集団として急性型ATL症例の末梢血中のATL細胞を高純度に検出することが明らかになった。Inverse PCRおよびTCR Vβレパトア解析の結果から、CD7dimの集団にも一部ATL細胞が混入している可能性があるが、その割合は少なく実用的には評価への影響は少ないと考えられる。この集団はATLの多

段階発がんを考慮するとATL細胞と同一クローンに属するaggressiveな腫瘍へとclonal evolutionする前の集団を見ている可能性がありATLの病態を考える上で興味深い。

HASにより末梢血中のATL細胞を形態によらずに正確に評価することが可能である。CD4 Tru count beadsを解析に組み込むことにより正確にCD4陽性細胞数を計測し、HASにおけるCD4陽性細胞中のATL細胞のパーセンテージを掛けることにより、より正確に腫瘍細胞数を評価することが可能であり、現在その測定系を開発中である。

今回の検討により末血中のATL細胞数のみでなく、HASにおけるCD7high/CD3high、CD7dim/CD3dim、CD7low/CD3dim集団のパターンの変化が化学療法による病勢のコントロール状況の評価に有用であると考えられた。これらの検討結果をもとに、HASにより移植前のATLの病勢の評価を行い、移植後の成績と対比することにより、今後ATL症例に対する骨髄移植における移植前の適切な病勢コントロール状態についての情報を蓄積していくことが必要である。

移植後の病勢評価におけるHASの有用性は今後の検討課題である。予備的検討ではCD7low集団の割合と末梢血中HTLV-1プロウイルス量には相関が見られず、移植後のサイトカイン環境においてはT細胞phenotypeの変化によりHASが有用ではない可能性がある。

## E. 結論

Multi-color FACSによりCD4(+)/CD7Low/CD3dim集団を検出することにより末梢血中ATL細胞の検出が可能であり、移植前化学療法による病勢の正確な評価が可能である。またCD3/7発現パターンも病勢の評価に有用であり、これらによりATL患者に移植を行う至適な病勢コントロール状況の評価が今後必要である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimaru K, Koh K, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S, and Yamaguchi K. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers:

a nationwide prospective study in Japan. Blood 116(8):1211-9. 2010 Aug 26.

2. Tian Y, Kobayashi S, Ohno N, Isobe M, Tsuda M, Tani K, Zaïke Y, Watanabe N, Tojo A and Uchimaru K. Leukemic T cells are specifically enriched in a unique CD3<sup>dim</sup>CD7<sup>low</sup> subpopulation of CD4<sup>+</sup> T cells in acute-type adult T cell leukemia. Submitted

## 2. 学会発表

1. Tian Y, Kobayashi S, Ohno N, Isobe M, Tsuda M, Zaïke Y, Watanabe N, Tojo A and Uchimaru K. Combination of CD3 and CD7 in multi-color FACS discriminates malignant cells in acute ATL patients. 第72回日本血液学会総会 横浜 2010
2. 大野伸広、田垂敏、小林誠一郎、磯部優理、津田真由子、在家裕司、渡辺信和、東條有伸、内丸薫：HTLV-1 キャリアにおけるMulti-color FACS: CD3 と CD7 の展開によるクローン増殖性リンパ球同定の試み. 第72回日本血液学会総会 横浜 2010
3. 田垂敏、小林誠一郎、大野伸広、磯部優理、津田真由子、在家裕司、渡辺信和、谷憲三朗、東條有伸、内丸薫：Multi-color FACS for efficient discrimination of ATL cells. 第3回HTLV-1研究会 東京 2010
4. 大野伸広、田垂敏、小林誠一郎、磯部優理、津田真由子、在家裕司、渡辺信和、谷憲三朗、東條有伸、内丸薫：HTLV-1 キャリア末梢血におけるMulti-color FACS: CD3 と CD7 の展開による異常リンパ球と発症高危険群の選別の試み. 第3回 HTLV-1研究会 東京 2010

## 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

成人 T 細胞白血病リンパ腫（ATL）の根治を目指した同種細胞療法の開発・  
確立とその機序の解明に関する研究

研究分担者： 田野崎隆二 国立がん研究センター中央病院 副科長

**研究要旨**

当院では第 3 期第 II 相試験（血縁者間末梢血幹細胞ミニ移植）に 5 人、第 4 期第 I 相試験（非血縁者間骨髄ミニ移植）に 3 人患者を登録し移植を実施した。非血縁者間移植では研究開始後の ATL 移植 14 例のうち本登録し得たのは 3 例（21%）にすぎず、なるべく多くの ATL 患者に対応できるような治療戦略を練る必要がある。HLA-DR 血清型不一致例などでは移植の安全性に問題がない可能性が示唆された。また、中枢神経浸潤例に対しては、抗がん剤の髄腔内投与と全脳全脊髄放射線照射を計画的に組み込むことにより、比較的安全に治癒を目指した治療を行い得る可能性が示唆された。

**A. 研究目的**

ATL 患者に対する骨髄非破壊的前処置法を用いた同種造血幹細胞移植療法（以下、ミニ移植）を開発的に検討し、多施設共同研究によりその安全性と有効性を確認することを目的とする。

**B. 研究方法**

現在本研究班で進行中の 2 つの多施設共同試験への登録を行った。非血縁者間同種ミニ移植について、ドナーと HLA が完全には一致していない場合、あるいは中枢神経浸潤を有する場合など、本臨床試験に不適格な症例に対して、ミニ移植を利用した完治を目的とした治療戦略について検討した。さらに、研究班の免疫療法プロトコルの検討にも携わった。

**C. 研究結果**

第 3 期第 II 相試験（血縁者間末梢血幹細胞ミニ移植）に登録中の 5 例のフォローを行い、第 4 期第 I 相試験（非血縁者間骨髄ミニ移植）に 3 例患者登録し移植を実施した。

非血縁者ドナーでは、HLA が完全には一致していない場合、移植前抗がん剤治療の感受性が低い場合、65 歳を超える場合、中枢神経浸潤を有する場合では第 4 期臨床試験に不適格であるが、当院では他の疾患への治療経験などから症例ごとに慎重に検討した上で移植適応を決定し、ほぼ同様の治療スケジュール

でパイロット研究として治療を行った。これまで非血縁者間同種ミニ移植は計 23 例に対し 24 回施行したが、このうち研究開始後の 14 例において本登録が可能だったのはわずかに 3 例のみであった。全症例のうち治療関連死亡は 3 例と許容範囲内であった。

一方、移植直前に中枢神経浸潤が判明した 2 例で、髄液注射を行って中枢神経病勢がコントロールできた場合に、約 20Gy の全脳全脊髄照射を行って、引き続きミニ移植を行った。副作用は 2 例とも耐容範囲であったが、1 例では移植後約 1 ヶ月で全身再発を来して死亡、他の 1 例では移植後 1 年経過した時点で再発なく経過しており、中枢神経浸潤のある ATL 患者であっても本治療法の安全性と有効性が示唆された。

**D. 考察**

現在本研究班で前方視的多施設臨床試験が進行中であるが、適格条件が比較的厳しく実際に当院に移植を依頼されて本登録できた症例は 14 例中 3 例(21%)にすぎないことが判明した。ただし、同種骨髄ミニ移植は高度な専門的技術が必要であるため、今後とも移植専門科である当院でのパイロット研究成果を吟味した上で研究班に提示して、多施設で評価可能かを検討する必要がある。

当院での経験では、HLA で血清型 DR 不一致例などでは移植の安全性に問題ない可能性が示唆された。また中枢神経浸潤例に対して

は、ミニ移植が全身病変に有効であることから、中枢神経病変に対する強力な放射線照射や髄液注射を行っても短期的毒性に関しては問題がないことが示唆された。計画的に中枢神経病変に対する治療を組み込むことにより、結果として髄腔内への抗がん剤の過量投与や放射線照射の繰り返しを避け、より安全に中枢神経病変の治療が行えることが示唆された。今後はなるべく多くの ATL 患者に対応できるような治療戦略を練る必要がある。

#### E. 健康危険情報

時に重篤な合併症を伴う治療であるために十分な経験と技術が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 口演

1. Tanosaki R. Transplantation in HTLV-1-associated T-cell lymphomas. T-cell Lymphoma Forum, Maui, Hawaii, USA. 30 Jan, 2010
2. 田野崎隆二 他: 中枢神経浸潤を伴う成人 T 細胞白血病リンパ腫に対する髄注・全脳全脊髄照射併用同種ミニ移植療法. 第 3 回 HTLV-1 研究会・合同班会議. 2010 年 8 月 東京大学医科学研究所

##### 2. 論文発表

1. Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J. Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials. Bone Marrow Transplant 46. 116-118, 2011
2. Hishizawa M, Kanda J, 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: Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. Blood 116(8):1369-1376, 2010
3. Tanosaki R and Tobinai K. Adult T-cell leukemia-lymphoma: current treatment

strategies and novel immunological approaches. Expert Rev Hematol 3(6):743-53, 2010

#### G. 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 に対する骨髄非破壊的移植療法のキメラ解析  
およびウイルス動態の検討

研究分担者：岡村 純 九州がんセンター 臨床研究部 部長

研究要旨

個人間で遺伝子配列長の多様な STR 領域の長さの違いに着目してキメリズムを評価した。方法として、10 個の STR 領域を同時に増幅する PCR を使用し、蛍光検出型電気泳動装置にて精製物を解析した。ドナー/レシピエント 1 ペアあたり複数個の STR 領域が存在し、解析した 56 全例においてキメリズムの解析が可能であった。

A. 研究目的

骨髄非破壊的移植療法（RIC）を実施する上で、拒絶や再発の指標となるドナー/レシピエントの混合キメラ比率を正確に評価することは極めて重要である。我々は、本臨床試験において short tandem repeat(STR)法を用いて、キメラ比率を定期的に測定し、その有効性を検討している。

B. 研究方法

対象：骨髄非破壊的移植療法の 4 種類のプロトコール（NST1、NST2、NST3、NST4）に登録された 56 例で、NST1,2,3 は血縁者間（ドナーは、すべて HLA 一致同胞、45 例）、NST4 は非血縁者間（ドナーは、すべて HLA 一致同胞、11 例）の移植である。方法：移植後、定期的に患者末梢血から分離した血球の DNA を精製し、10 個の STR 領域を同時に増幅する PCR を行い、蛍光検出型電気泳動装置にて精製物を解析した。予めドナーの末梢血から得られた血球 DNA の STR を比較対照とした。血球は、さらに抗体カラムを用いてネガティブセレクションにより、顆粒球、単核球および T 細胞に分類し、3 種類で各々のキメリズムを測定した。移植したドナー単核球数の占める割合が、末梢血で 95% を超えるキメラ値が得られた時に、完全キメラ達成と判断した。移植後は、30、60、90、180、1 年、および 1 年毎にキメラ解析を実施した。

C. 研究結果

全例でドナーとキメラの比率を示すことが可能であった。初期の臨床試験である血縁者間移植 NST1、NST2 を含め、移植症例全 56 例で解

析可能な STR 領域が存在し、患者末梢血における移植後単核球(MNC)のキメリズムの経過観察は十分に可能であった(図 1-A に NST3 における例を示す)

1. キメラ値を計算した遺伝子領域

NST3 本登録 15 症例では、移植あたり解析可能な領域数は平均 5.3(領域数は 2~9)であった(図 B)。また、NST4 本登録症例 11 症例では平均 4.8(領域数は 2~9)であった。NST4 は非血縁者間移植であったがキメラ値の測定は十分に可能であった。(図 1-B)

2. 移植後のキメラ率の推移

NST1 と NST2 の解析結果についてはすでに報告した。NST3 では、15 例中 15 例、NST4 では 11 例中 9 例が、移植後 90 日以内に完全キメラを達成した。移植後早期に ATL が再発した NST4 の 2 例は完全キメラ達成を達成しなかった。完全キメラ達成までの期間は、NST3（幹細胞源は、血縁者間末梢血、前処置はブスルファン/フルダラビン）では、単核球、T 細胞、顆粒球について、各々 60、90、30 日であったが、NST4（幹細胞源は、非血縁者間骨髄、前処置はブスルファン/フルダラビン/全身放射線照射 2Gy）ではいずれも 30 日であり、この前処置で非血縁骨髄を使用する RIC では完全キメラの達成が早い傾向が見られた。

D. 考察

本解析に用いた STR 法によるキメリズム解析は、ドナーが血縁か非血縁を問わず RIC において応用が可能であり、ドナー/レシピエントの識別が困難な症例はなかった。NST4 の 2 例では、完全キメラが達成されなかったが、病勢がコン

トロールされなかったことを反映していた。

## E. 結論

STR法によるキメラ比率の測定はATLに対するRICの経過観察には有効な手段であると考えられる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda N, 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. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. Blood 116(8):1369-76, 2010
- Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J. Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials. Bone Marrow Transplant 46. 116-118, 2011

## 2. 学会発表

### 《国際学会》

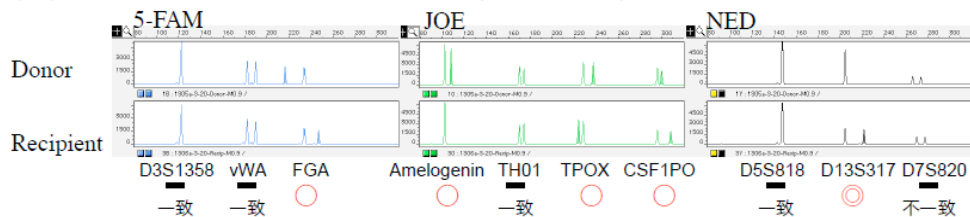
- Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Okamura J. Antiviral effect of allo-SCT with RIC for ATLL: Short and long-term kinetics of HTLV-1 proviral load. The 1st International Society of Cell Therapy (ISCT) Asia-Pacific Regional Meeting, Oct 19, Miyazaki, Japan (示説)
- Hasegawa A, Zeng N, Shimizu Y, Sasada A, Takamori A, Tamai Y, Utsunomiya A, Tanosaki R, Choi I, Uika N, Okamura J, Kannagi M. Basic study on peptide-pulsed dendritic cell-based immunotherapy for adult T-cell leukemia. The 1st International Society of Cell Therapy (ISCT) Asia-Pacific Regional Meeting, Oct 19, Miyazaki, Japan (示説)

### 《国内学会》

- Tamai Y, Hasegawa A, Tanosaki R, Takamori A, Zeng N, Sasada A, Matsuoka M, Utsunomiya A, Choi I, Uike N, Okamura J, Kannagi M. HTLV-1 Tax-specific CTL responses after reduced-intensity bone marrow transplantation from unrelated donor for ATL. 日本癌学会総会、横浜市、2010.9.23 (示説)

図: STRによるキメラ解析結果(NST-1,2,3,4)

(A) 標的の10 locus : allele 片側一致を探した(NST3-20の例)。



(B) キメラ値計算に使用したLocusの分布

Locus	D3S1358	vWA	FGA	Amelogenin	TH01	TPOX	CSF1PO	D5S818	D13S317	D7S820	登録者数
NST1	0	1	4	0	0	0	1	0	4	6	16
NST2	0	0	4	0	1	2	0	3	2	2	14
NST3	0	1	3	0	3	0	2	1	5	0	15
NST4	1	0	1	0	0	4	0	0	4	1	11
total	1	2	12	0	4	6	3	4	15	9	56

本登録移植症例の全てにおいて、解析に適したLocusが存在した。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
<u>Yasunaga J</u> , <u>Jeang KT</u> .	Cellular checkpoint dysregulation and HTLV-1 transformation.	Lever A, Jeang KT, Berkhout B, eds.	RECENT ADVANCES IN HUMAN RETROVIRUSES: PRINCIPLES OF REPLICATION AND PATHOGENESIS	World Scientific Publishing	Hackensack, NJ	2010	
蓮井和久、 宇都宮 興、 瀬戸山 充	非 Hodgkin リンパ腫・ T/NK 細胞性 成人 T 細胞白血病/リンパ腫	青笹 克之	癌診療指針のための 病理診断プラクティス リンパ球増殖疾患	中山書店	東京	2010	210-218

### 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
<u>Choi I</u> , <u>Tanosaki R</u> , <u>Uike N</u> , <u>Utsunomiya A</u> , <u>Tomonaga M</u> , <u>Harada M</u> , <u>Yamanaka T</u> , <u>Kannagi M</u> and <u>Okamura J</u> .	Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective trials.	Bone Marrow Transplant	46	116-118	2011
<u>Kannagi M</u> , Hasegawa A, Kinpara S, Shimizu Y, Takamori A and <u>Utsunomiya A</u> .	Double control of viral expression by innate and acquired immunity in Human T-cell leukemia virus type-I infection.	Cancer Sci	102	670-676	2011
<u>Satou Y</u> , <u>Yasunaga J</u> , <u>Zhao T</u> , <u>Yoshida M</u> , <u>Miyazato P</u> , <u>Takai K</u> , <u>Shimizu K</u> , <u>Ohshima K</u> , <u>Green PL</u> , <u>Ohkura N</u> , <u>Yamaguchi T</u> , <u>Ono M</u> , <u>Sakaguchi S</u> and <u>Matsuoka M</u> .	HTLV-1 bZIP Factor Induces T-Cell Lymphoma and Systemic Inflammation In Vivo.	PLoS Pathog	7	e1001274	2011
<u>Yamamoto K</u> , <u>Utsunomiya A</u> , <u>Tobinai K</u> , <u>Tsukasaki K</u> , <u>Uike N</u> , <u>Uozumi K</u> , <u>Yamaguchi K</u> , <u>Yamada Y</u> , <u>Hanada S</u> , <u>Tamura K</u> , <u>Nakamura S</u> , <u>Inagaki H</u> , <u>Ohshima K</u> , <u>Kiyoi H</u> , <u>Ishida T</u> , <u>Matsushima K</u> , <u>Akinaga S</u> , <u>Ogura M</u> , <u>Tomonaga M</u> and <u>Ueda R</u> .	Phase I Study of KW-0761, a Defucosylated Humanized Anti-CCR4 Antibody, in Relapsed Patients With Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma and Peripheral T-Cell Lymphoma.	J. Clin Oncol	28	1591-1598	2010

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Takamatsu Y, Suzumiya J, <u>Utsunomiya A</u> , Maeda K, Matsuoka H, Suzushima H, Tsukada J, Shibata K and Tamura K.	The Kyushu Hematology Organization for Treatment Study Group (K-HOT) : THP-COP regimen for the treatment of peripheral T-cell lymphoma and adult T-cell leukemia/lymphoma: a multicenter phase II study.	Eur J Haematol	84(5)	391-397	2010
Ishii T, Ishida T, <u>Utsunomiya A</u> , Inagaki A, Yano H, Komatsu H, Iida S, Imada K, Uchiyama T, Akinaga S, Shitara K and Ueda R.	Defucosylated humanized anti-CCR4 monoclonal antibody KW-0761 as a novel immunotherapeutic agent for adult T-cell leukemia/lymphoma.	Clin Cancer Res	16(5)	1520-1531	2010
Iwanaga M, Watanabe T, <u>Utsunomiya A</u> , Okayama A, <u>Uchimaru K</u> , Kou KR, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S and Yamaguchi K.	Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan.	Blood	116(8)	1211-1209	2010
Hishizawa M, Kanda J, <u>Utsunomiya A</u> , <u>Taniguchi S</u> , Eto T, Moriuchi Y, <u>Tanosaki R</u> , 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, <u>Okamura J</u> , Ichinohe T and Uchiyama T.	Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study.	Blood	116(8)	1369-1376	2010
Waki F, Masuoka K, Fukuda T, Kanda Y, Nakamae M, Yakushijin K, Togami K, Nishiwaki K, Ueda Y, Kawano F, Kasai M, Nagafuji K, Hagihara M, Hatanaka K, Taniwaki M, Maeda Y, Shirafuji N, Mori T, <u>Utsunomiya A</u> , Eto T, Nakagawa H, Murata M, Uchida T, Iida H, Yakushiji K, Yamashita T, Wake A, Takahashi S, Takaue Y and <u>Taniguchi S</u> .	Feasibility of reduced-intensity cord blood transplantation as salvage therapy for graft failure: results of a nationwide survey of 80 adult patients.	Biol Blood Marrow Transplant		Epub ahead of print	2010



発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Waki F, Masuoka K, Wake A, Takahashi S, Takaue Y and <u>Taniguchi S.</u>	Feasibility of Reduced-intensity Cord Blood Transplantation as Salvage Therapy for Graft Failure: Results of a Nationwide Survey of 80 Adult Patients.	Biol Blood Marrow Transplant			2010
Masuoka K, Uchida N, Ishiwata K, Takagi S, Tsuji M, Yamamoto H, Seo S, Matsuno N, Wake A, Makino S, Yoneyama A and <u>Taniguchi S.</u>	What is the upper age limit for performing allo-SCT? Cord blood transplantation for an 82-year-old patient with AML.	Bone Marrow Transplant	116(4)	649-652	2010
Takagi S, Ota Y, Uchida N, Takahashi K, Ishiwata K, Tsuji M, Yamamoto H, Asano-Mori Y, Matsuno N, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Ohashi K and <u>Taniguchi S.</u>	Successful engraftment after reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for myelofibrosis.	Blood	116(4)	649-652	2010
Saito Y, Kitamura H, Hijikata A, Tomizawa-Murasawa M, Tanaka S, Takagi S, Uchida N, Suzuki N, Sone A, Najima Y, Ozawa H, Wake A, <u>Taniguchi S</u> , Shultz LD, Ohara O and Ishikawa F.	Identification of therapeutic targets for quiescent, chemotherapy-resistant human leukemia stem cells.	Sci Transl Med.	2(17)	17-19	2010
Morita-Hoshi Y, Mori SI, Soeda A, Wakeda T, Ohsaki Y, Shiwa M, Masuoka K, Wake A, <u>Taniguchi S</u> , Takaue Y and Heike Y.	Identification of molecular markers for pre-engraftment immune reactions after cord blood transplantation by SELDI-TOF MS.	Bone Marrow Transplant	45(11)	1594-1601	2010
<u>Satou Y</u> and Matsuoka M.	HTLV-1 and the host immune system: How the virus disrupts immune regulation, leading to HTLV-1 associated diseases.	J Clin Exp Hematopathol	50(1)	1-8	2010
Fan J, Ma G, Nosaka K, Tanabe J, <u>Satou Y</u> , Koito A, Wain-Hobson S, Vartanian JP and Matsuoka M.	APOBEC3G generates nonsense mutations in human T-cell leukemia virus type 1 proviral genomes in vivo.	J Virol	4(14)	7278-7287	2010
Ishitsuka K, <u>Fukushima T</u> , Tsukasaki K and Tobinai K.	Is Zidovudine and Interferon-Alfa the Gold Standard for Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma?	J Clin Oncol		Epub ahead of print	2010

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出版年
<u>Tanosaki R and Tobinai K.</u>	Adult T-cell leukemia-lymphoma: current treatment strategies and novel immunological approaches.	Expert Rev Hematol	3(6)	743-753	2010
<u>岡村純、鶴池直邦</u>	成人 T 細胞白血病(ATL)は幹細胞移植でどこまで治せるようになったか	季刊きんむ医	153	8-9	2010
<u>神奈木真理</u>	ATL・HTLV-1 研究の潮流. 第 8 回. HTLV-1 感染と免疫	分子細胞治療別冊 (先端医学社)		36-40	2010
<u>長谷川温彦、金原秀一、神奈木真理</u>	I 型インターフェロンによる HTLV-1 発現制御	血液・腫瘍科	60	587-593	2010
<u>宇都宮與</u>	ATL 最近の話題と治療ー移植治療や未来の治療を含めて『症例検討を通じて学ぶ悪性リンパ腫診療の実際』ーリンフォーマ井戸端会議から学んだことー	メディカルレビュー社		59-62	2010
<u>宇都宮與</u>	IV-18. 成人 T 細胞白血病/リンパ腫 血液疾患	最新の治療 2011-2013		214-219	2010
<u>村橋(伊賀)睦了、土方康基、末廣陽子他</u>	抗腫瘍免疫療法における新戦略	臨床血液		in press	2010