

2025 年 5 月 19 日

Japan Institute for Health Security,
National Institute of Infectious Diseases
国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所
St. Marianna University School of Medicine
聖マリアンナ医科大学

HTLV-1 感染細胞クロナリティ解析技術「RAISING」により くすぶり型 ATL 患者の予後予測精度がさらに向上

【研究成果のポイント】

- 成人 T 細胞白血病・リンパ腫（ATL）診断の指標の一つがヒト白血病ウイルス I 型（HTLV-1）感染細胞の単クローン増殖です。今回、くすぶり型 ATL 患者におけるクローン増殖度合い（Cv：クロナリティ値）を定量的に解析した結果、Cv の高い集団（ $Cv \geq 0.5$ ）と低い集団（ $Cv < 0.5$ ）が混在するヘテロな集団であることを明らかにしました。
- Cv が高いくすぶり型 ATL 患者は、予後不良なアグレッシブ ATL に進行するリスクが高いことが示されました。
- 従来の予後予測因子である血清可溶性インターロイキン 2 受容体（sIL-2R）量とクロナリティ値（Cv）を組み合わせることで、アグレッシブ ATL 進行リスクの層別化精度が向上することを示しました。

【概要】

国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所検査診断技術研究部/ウイルス第二部の斎藤益満主任研究員（聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター・病態解析部門、非常勤講師）、聖マリアンナ医科大学脳神経内科/難病治療研究センターの山野嘉久主任教授、佐藤知雄准教授、長崎大学病院検査部の長谷川寛雄准教授、JSPFAD（Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development）らの研究グループは、独自に開発した HTLV-1 感染細胞クロナリティ解析技術 RAISING*¹-CLOVA*²を用いて、無症候キャリア、HAM 患者、ATL 患者の計 644 例に対してクロナリティ値の測定を行いました。その結果、くすぶり型 ATL 患者のアグレッシブ ATL 進行リスク評価および予後予測において、クロナリティ値が既存指標であるプロウイルス量（PVL）や血清 sIL-2R 量を凌駕する有用性を有することを明らかにしました。

【背景】

HTLV-1 感染者（無症候キャリア：AC）は、世界で少なくとも 500 万～1,000 万人存在し、そのうち約 5%が HTLV-1 関連脊髄症（HAM）や ATL といった重篤な疾患を発症することが知られています。ATL は、くすぶり型、慢性型、急性型、リンパ腫型に分類され、「末梢血中の異常リンパ球が 5%以上」存在する場合に診断されるくすぶり型 ATL 患者は、一般的に無症状ですが、半数以上が予後不良なアグレッシブ ATL（予後不良因子を有する慢性型、リンパ腫型および急性型）へと進行することが報告されています。しかし、くすぶり型 ATL 患者の進行・非進行を規定する確実なバイオマーカーはこれまで同定されてい

ませんでした。

ATL 発症リスク評価・予後予測においては、

- ・末梢血中の HTLV-1 プロウイルス量 (PVL)
- ・HTLV-1 感染細胞のクロナリティ
- ・および血清中の可溶性インターロイキン 2 受容体 (sIL-2R) 量

が有用であると報告されてきましたが、大規模な縦断的検証の欠如や、クロナリティ解析技術の煩雑さ・感度不足などにより、臨床応用は限定的でした。これらの課題を克服するため、我々は RAISING-CLOVA 技術を開発し、HTLV-1 感染細胞のクロナリティを迅速・高感度・低コストでクロナリティ値 (Cv) として定量化することを可能にしました。本技術により、AC および HAM 患者において、 $Cv \geq 0.5$ が ATL 発症リスクの上昇と関連することを、我々は既に縦断的研究で示しています。

本研究では、くすぶり型 ATL 患者を対象に、アグレッシブ ATL への進行リスク評価 (予後予測) における Cv の有用性を新たに大規模かつ縦断的に検証しました。

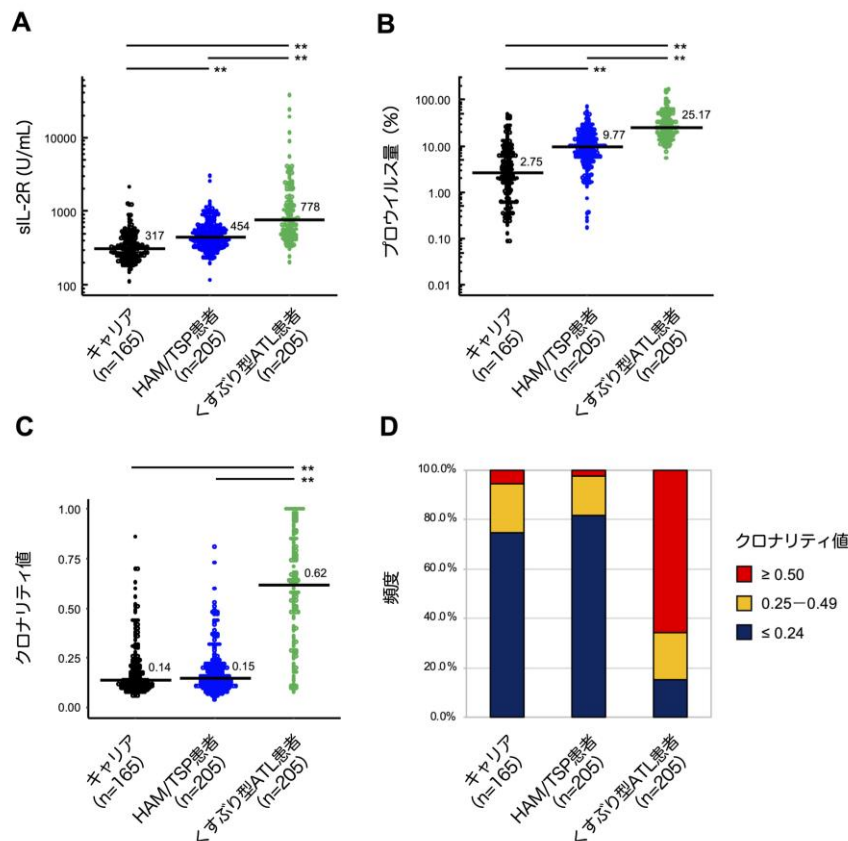


図1 キャリア、HAM/TSP 患者、くすぶり型 ATL 患者における可溶性インターロイキン 2 受容体量 (sIL-2R)、プロウイルス量、およびクロナリティ値 (A、B、C)。ATL 発症リスク評価法におけるクロナリティ値の 3 つのカットオフ値 (高リスク : ≥ 0.50 、中リスク : $0.25 \sim 0.49$ 、低リスク : ≤ 0.24) と各集団の頻度 (D)。

【研究方法】

対象は、AC : 165 例、HAM/TSP : 205 例、くすぶり型 ATL : 125 例 (うち 23 例がアグレッシブ ATL 進行、61 例が非進行、41 例が 1 時点のみ)、慢性型 ATL : 48 例 (予後不良因子なし 24 例、予後不良因子あり 24 例)、急性型 ATL : 101 例の計 644 例。末梢血中の Cv、sIL-2R 量、PVL を測定し、解析を実施しました。

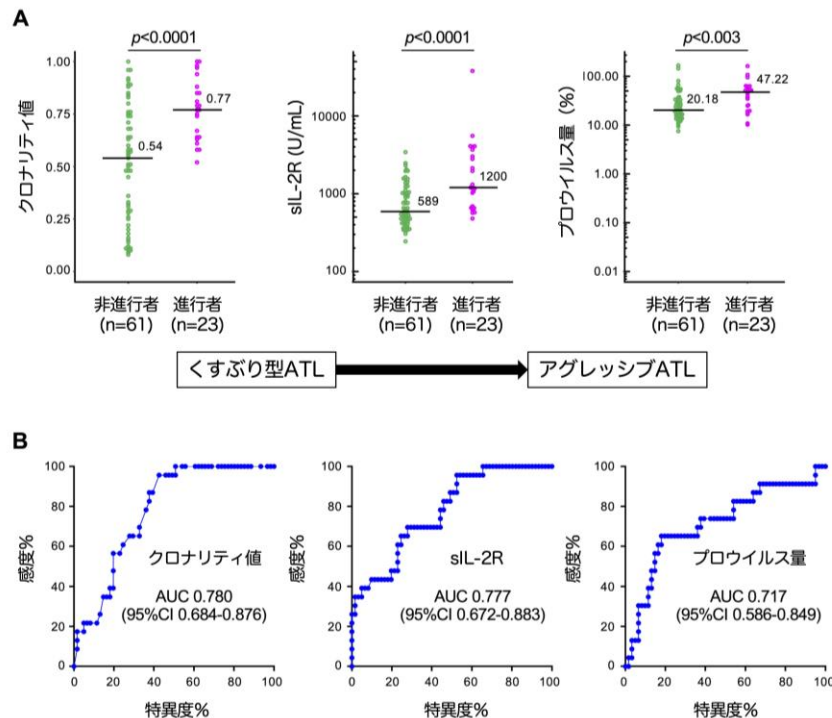


図2 くすぶり型ATL患者中における、アグレッシブATL進行者と非進行者のクロナリティ値、可溶性インターロイキン2受容体量 (sIL-2R)、およびプロウイルス量 (A)。Receiver Operating Characteristic 解析によって得られたクロナリティ値、sIL-2R 量、およびプロウイルス量のアグレッシブATL 進行者と非進行者の判別感度と特異度 (B)。曲線下面積 (AUC) が1に近いほど判別度がよい。

【研究成果】

まず、AC、HAM、くすぶり型ATL患者におけるCv、sIL-2R量、PVLの分布を比較したところ、くすぶり型ATL患者で全てのリスク因子が有意に高値でした。一方で、くすぶり型ATL患者の中には、ACやHAM患者と同等の低いCvを示す患者が存在することが判明しました (図1A-C)。また、われわれが以前確立したATL発症リスク評価法のCvカットオフ値を用いて、くすぶり型ATL患者を3つのリスク群 (低リスク: 0.24以下、中リスク: 0.25-0.49、高リスク: 0.50以上) に分類したところ、多くのくすぶり型ATL患者 (65.6%) は高リスク群に分類されるものの、残りは中リスク群 (19.2%) と低リスク群 (15.2%) に分類されました (図1D)。これらの結果は、現在の基準で診断されたくすぶり型ATL患者がヘテロな集団で構成されていることを明確に示しています。

次に、くすぶり型ATL患者におけるアグレッシブATLへの進行予測因子として、Cv、sIL-2R量、PVLの有用性を評価したところ、追跡期間中 (全期間: 0~167ヵ月、平均期間: 56.4ヵ月) にアグレッシブATLへ進行した例は、非進行例よりも全ての因子が有意に高いことが示されました (図2A)。また Receiver Operating Characteristic 解析の結果より、Cv (曲線下面積 [AUC] = 0.780) と sIL-2R (AUC = 0.777) は PVL (AUC = 0.717) に比して進行有無のより高い識別能を有することが示されました (図2B)。

さらに、以前設定されたCvおよびsIL-2R量のカットオフ値 ($Cv \geq 0.50$, $sIL-2R \geq 1,000$ U/mL) を用いて、これらのカットオフ値で分けられた4つの領域 (R1-R4) における非ATL患者 (ACとHAM患者)、くすぶり型ATL、慢性型ATL、急性型ATLのCvとsIL-2R量の分布を比較しました。非ATL患者では主に

R1 に分布するのに対し、慢性型および急性型 ATL 患者は主に R4 に分布していました。対照的に、くすぶり型 ATL 患者は R1、R2、R4 にほぼ均一に分布しており、ヘテロな集団であることがさらに強調されました (図 3A)。この結果に基づき、3 つの進行リスク群に層別化を行いました (R1 : 低リスク群、R2 と R3 : 中リスク群、R4 : 高リスク群)。

Cv および sIL-2R のそれぞれのカットオフ値、ならびにその組み合わせを用いて、くすぶり型 ATL からアグレッシブ ATL への累積進行率を評価した結果、図 3B に示すように、Cv が 0.5 以上のくすぶり型 ATL 患者のみがアグレッシブ ATL に進行することが判明しました (平均進行期間 [MTTP] : 99.0 カ月)。また、先行研究と同様に、sIL-2R 量も有用な予後マーカーであることが確認されました (MTTP : 44.0 カ月 ; 図 3C)。注目すべきは、Cv と sIL-2R 量のカットオフ値を組み合わせた解析により、くすぶり型 ATL 患者を 3 つのリスク群 (R1、R2+R3、R4) に効果的に層別化できた点です。それぞれの群は、アグレッシブ ATL への非進行集団 (R1)、遅い進行集団 (R2+R3)、速い進行集団 (R4) として明確に区別され、累積進行率も以下のように異なっていました (MTTP : 低リスク群、到達せず ; 中リスク群、156.0 カ月 ; 高リスク群、25.0 カ月 ; 図 3D)。これらの結果は、われわれのアプローチが、アグレッシブ ATL 進行リスクをより高精度に評価する新たな手法となりうること、さらに、治療介入を検討すべき高リスク群 (R4) と、介入の必要性が低い低リスク群 (R1) を明確に識別可能であることを示唆しています。

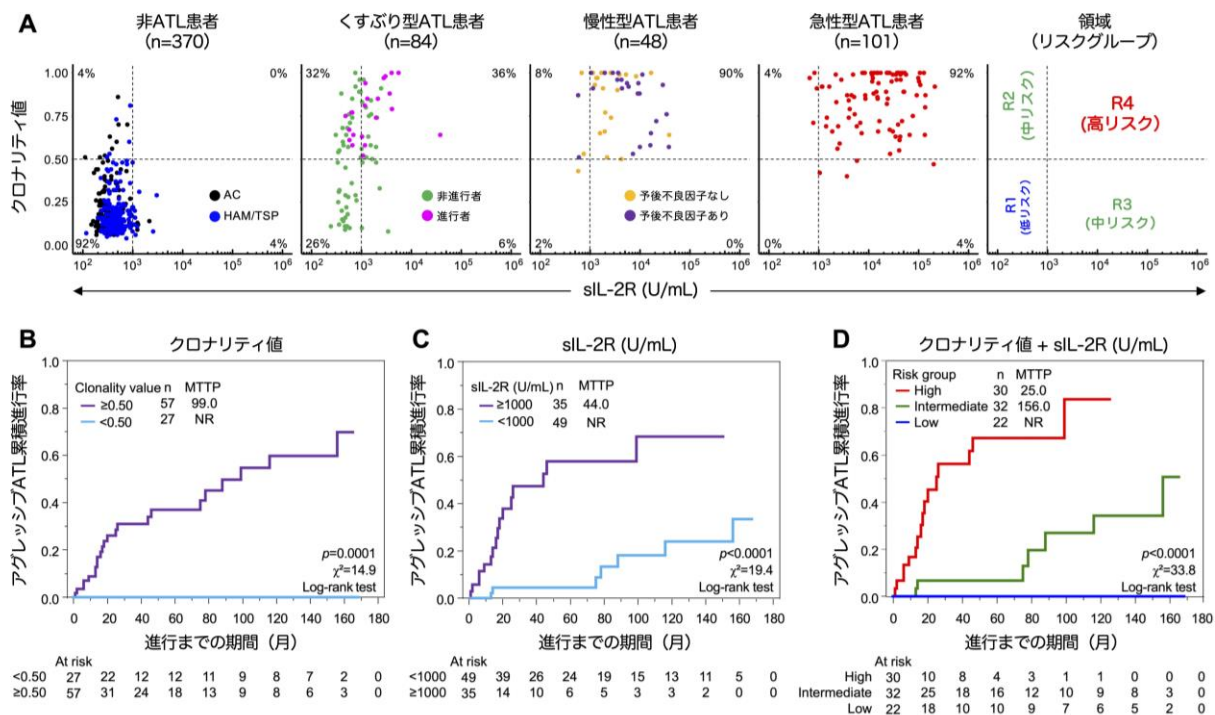


図3 (A) 非ATL (キャリア: AC、HAM/TSP 患者)、くすぶり型、慢性型、急性型 ATL 患者におけるクロナリティ値と可溶性インターロイキン2受容体量 (sIL-2R) の分布、およびこれらのカットオフ値を用いたアグレッシブ ATL 進行リスク分類。(B、C) クロナリティ値のカットオフ値: 0.50、sIL-2R のカットオフ値: 1,000 U/mL。クロナリティ値と sIL-2R 量のカットオフ値を単独で用いた場合のアグレッシブ ATL 累積進行率。(D) クロナリティ値と sIL-2R 量のカットオフ値の組み合わせを用いた場合のアグレッシブ ATL 累積進行率。3つのアグレッシブ ATL 進行リスクグループ (高リスク: High、中リスク: intermediate、小リスク: Low) は、図 3A において分類。MTTP (Mean Time to Progression): 平均進行期間、NR (Not Reached): 到達せず。

【展望】

本邦における近年の疫学調査により、毎年約 1,000 例の ATL 新規発症が推定されています。HTLV-1 研究において本邦は長年にわたり世界をリードしており、ATL 診断基準の策定にも中心的な役割を果たしてきました。本研究成果は、クロナリティ値 (Cv) をくすぶり型 ATL の診断および予後予測基準に導入することの有用性を、大規模な縦断データにより実証したものです。これにより、くすぶり型 ATL 患者におけるリスク層別化に基づいた、テーラーメイドな臨床管理および治療介入戦略の確立に向けた研究のさらなる進展が期待されます。

【発表者・研究者等情報】

- ・ 国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所検査診断技術研究部/ウイルス第二部
斎藤 益満 主任研究員
- ・ 学校法人聖マリアンナ医科大学 脳神経内科/難病治療研究センター
山野 嘉久 主任教授/部門長

【論文情報】

雑誌名: Haematologica

題名: Clonality analysis of HTLV-1-infected cells enhances prognostic precision in smoldering adult T-cell leukemia/lymphoma

著者名: Masumichi Saito*, Tomoo Sato, Hiroo Hasegawa, Kenichiro Tanabe, Hazuka Yoshida-Furihata, Erika Horibe, Ariella Coler-Reilly, Naomi Nojiri, Shunsuke Yamauchi, Makoto Nakashima, Natsumi Araya, Naoko Yagishita, Kenichiro Takahashi, Daisuke Sasaki, Yasuko Sagara, Kaoru Uchimar, Atae Utsunomiya, Koh Ki-Ryang, Takeharu Kato, Hidehiro Itonaga, Yasushi Miyazaki, Katsunori Yanagihara, Kumi Oshima, Ayako Arai, Toshiki Watanabe, and Yoshihisa Yamano*

DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2025.287521>

URL: <https://haematologica.org/index>

【研究助成】

本研究は主に、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)・難治性疾患実用化研究事業の診療に直結するエビデンス創出研究「HAM・HTLV-1 陽性難治性疾患の患者レジストリを活用したエビデンス創出研究 (JP24ek0109735)」、厚生労働省・厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患政策研究事業の「HAM ならびに類縁疾患の患者レジストリによる診療連携体制および相談機能の強化と診療ガイドラインの改訂 (22FC0201)」、文部科学省 科学研究費助成事業 (22H02987, 22H04923) の支援の下で行われました。

【用語解説】

*1 RAISING (ライジング): Rapid Amplification of the Integration Site without Interference by Genomic DNA Contamination の略称。ウイルス感染細胞におけるプロウイルス挿入部位を特異的に増幅する技術であり、本研究の著者らによる先行研究により開発された。従来のクロナリティ解析技術に比べ

て、増幅完了までの所要時間が短く（約4時間）、特殊な試薬や高額な解析機器を必要とせず、簡便かつ低コストでありながら高感度・高精度なクロナリティの解析が可能な技術。

※2 CLOVA（クローバ）：Clonality value の略称。RAISINGにより得られたプロウイルス挿入断片のサンガーシーケンススペクトルの強度データを用いて、感染細胞のクロナリティ値を数値化するソフトウェア。

【関連するプレスリリース】

2022年10月21日付けプレスリリース：

牛のリンパ腫発症を予測するがん検診技術を開発～発症予測法の実用化による畜産被害の軽減に期待～

URL：https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/221021_pr6.pdf

2024年3月28日付けプレスリリース：

牛リンパ腫発症予測診断技術 RAISING の精度の高さを証明～国内初の14研究機関による多施設検証試験を実施～

URL：https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/250328_pr.pdf

【RAISING を用いた検査・解析サービス】

- ・株式会社ファスマック バイオ研究支援事業部（研究用）

URL：https://fasmac.co.jp/rais_method_about

問い合わせ：ngs@fasmac.co.jp

- ・株式会社 LSI メディエンス 川崎ラボラトリー（臨床検査用）

URL：<https://data.medience.co.jp/guide/guide-08120003.html>

問い合わせ：<https://www.medience.co.jp/contact/form.html>

【問い合わせ先】

《研究に関すること》

- ・国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所検査診断技術研究部/ウイルス第二部

氏名：斎藤 益満

- ・学校法人聖マリアンナ医科大学 脳神経内科/難病治療研究センター

氏名：山野 嘉久

《取材に関すること》

国立健康危機管理研究機構

E-mail：info@nih.go.jp

<https://www.jihs.go.jp/>

Press Release

Improved Prognostic Precision for Smoldering ATL Using “RAISING” Technology for Clonality Analysis of HTLV-1-Infected Cells

Key Points

- Researchers quantified the clonal expansion of HTLV-1-infected cells in smoldering adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) patients using a clonality value (Cv), revealing that this disease group is heterogeneous, comprising both high- and low-clonality populations.
- Patients with high Cv (≥ 0.5) were found to have a significantly greater risk of progression to aggressive ATL.
- Combining serum soluble IL-2 receptor (sIL-2R) levels—a conventional biomarker—with Cv markedly improved risk stratification accuracy for disease progression.

Summary

A research group led by Dr. Masumichi Saito (National Institute of Infectious Diseases / Japan Institute for Health Security), Professor Yoshihisa Yamano, and Associate Professor Tomoo Sato (St. Marianna University School of Medicine), together with Dr. Hiroo Hasegawa (Nagasaki University Hospital) and the Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development (JSPFAD), conducted a large-scale longitudinal analysis involving 644 individuals. Utilizing the RAISING-CLOVA system, a novel and sensitive method for quantifying clonality in HTLV-1-infected cells, the team demonstrated that Cv is a superior biomarker for predicting the progression of smoldering ATL compared to conventional indicators such as proviral load (PVL) and serum sIL-2R levels.

Background

HTLV-1 infects an estimated 5–10 million individuals globally. Approximately 5% develop severe diseases such as HTLV-1-associated myelopathy (HAM) or ATL. Smoldering ATL, a subtype characterized by $\geq 5\%$ abnormal lymphocytes in peripheral blood but often asymptomatic, can progress to aggressive ATL in over half of the cases. However, no reliable biomarker for predicting this progression had been established. Traditional prognostic indicators include PVL, the degree of clonal expansion of infected cells, and serum sIL-2R concentration. However, limitations in sensitivity and practicality have hindered their clinical utility.

The RAISING-CLOVA method overcomes these barriers by enabling rapid, high-sensitivity, and low-cost quantification of clonal expansion as a numerical value (Cv).

Findings

Among smoldering ATL patients, those with $Cv \geq 0.5$ showed a significantly higher risk of progression to aggressive ATL (mean time to progression: 99 months), while those with low Cv remained stable. Cv showed a stronger discriminatory power (AUC = 0.780) than PVL (AUC = 0.717) in ROC analyses. When Cv and sIL-2R levels (cutoff: 1,000 U/mL) were combined, patients could be stratified into three risk groups with distinct progression trajectories:

- **Low risk (R1):** $Cv < 0.5$ and $sIL-2R < 1,000$ — no observed progression.
- **Intermediate risk (R2+R3):** Either $Cv \geq 0.5$ or $sIL-2R \geq 1,000$ — slow progression (MTTP: 156 months).
- **High risk (R4):** $Cv \geq 0.5$ and $sIL-2R \geq 1,000$ — rapid progression (MTTP: 25 months).

Outlook

Approximately 1,000 new ATL cases occur in Japan each year. Japan has played a leading role in global HTLV-1 research, including the establishment of diagnostic criteria for ATL. This study substantiates the clinical utility of Cv as a novel and powerful biomarker for risk stratification in smoldering ATL. These findings could inform future precision medicine approaches and timely therapeutic interventions tailored to individual risk levels.

Publication Details

Journal: *Haematologica*

Title: ***Clonality analysis of HTLV-1-infected cells enhances prognostic precision in smoldering adult T-cell leukemia/lymphoma***

DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2025.287521>

Contact for Inquiries

- Dr. Masumichi Saito, National Institute of Infectious Diseases
- Prof. Yoshihisa Yamano, St. Marianna University School of Medicine

Funding Acknowledgment

This research was supported by AMED (JP24ek0109735), the Ministry of Health, Labour and Welfare (22FC0201), and JSPS KAKENHI (22H02987, 22H04923).