

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

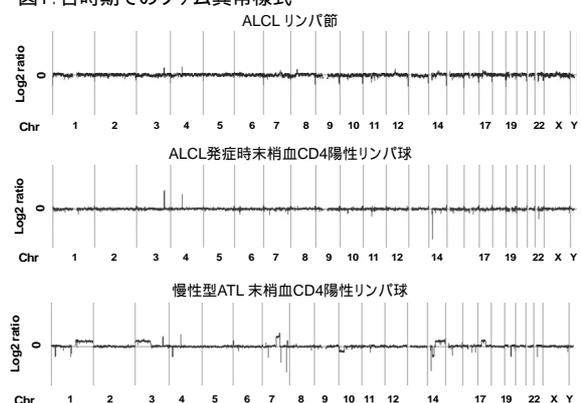
3 検体ともに共通して CNV 部に異常が認められ、同一患者由来の DNA であった。

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

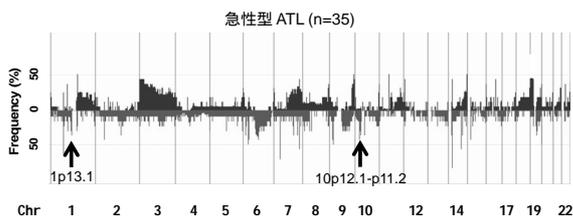
ALCL 発症時の末梢血検体ではゲノム異常はみられず、末梢血中には ALCL の異常細胞や ATL 細胞は存在していないと考えられる。

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- 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