

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

慢性型 ATL の急性転化に関わる分子機構の解明

研究分担者 瀬戸 加大

愛知県がんセンター研究所・副所長 兼 遺伝子医療研究部・部長

**研究要旨**

本班は ATL の成立・進展に関与する遺伝子異常の抽出を課題としている。本研究では慢性型 ATL の急性転化機構の解明を試みた。網羅的ゲノム異常解析、ならびに機能解析から 9p21.3 に存在する *CDKN2A* の欠失が慢性型 ATL の急性転化機構に関与していることを見出した。本年は、これら網羅的ゲノム異常解析の結果と臨床情報を組み合わせ、見出したゲノム異常が慢性型 ATL 患者におけるバイオマーカーとなりうるか検討を実施した。その結果、慢性型 ATL 患者で、*CDKN2A* を含む Cell cycle 関連遺伝子の異常を持つ群は、持たない群に比べて予後不良であり、また急性転化しやすい傾向があることを見出した。

**A. 研究目的**

成人 T 細胞性白血病・リンパ腫 (ATL) は臨床病型から 4 つに分類される。このうち、予後良好な病型とされる慢性型 ATL 患者の半数が急性型へと移行し、死亡している。私たちは昨年までに、9p21.3 に存在する *CDKN2A* の欠失が慢性型 ATL の急性転化機構に関与していることを見出した。本年は臨床情報と、ゲノム異常解析の結果を合わせ、*CDKN2A* がバイオマーカーとなりうるかの検討を実施した。

**B. 研究方法**

慢性型 27 例、急性型 35 例の患者末梢血検体を共同研究者施設より得た。ATL 細胞

は CD4 陽性であるため、CD4 陽性細胞から DNA, RNA は抽出した。ゲノム異常解析は 400K or 44K oligo-array comparative hybridization (aCGH) (Agilent Technologies)を用い、遺伝子発現解析には 44K microarray Kit (Agilent Technologies)を用いた。

予後評価のために、全生存期間(OS)と累積急性転化率を求めた。OS は診断日から原因を問わない死亡日、または最終フォローアップ日とした。累積急性転化率は、診断日から急性転化までの日数、あるいは治療介入日、または最終フォローアップ日とした。これらは Kaplan-Meier 法を用いて評価を行った。

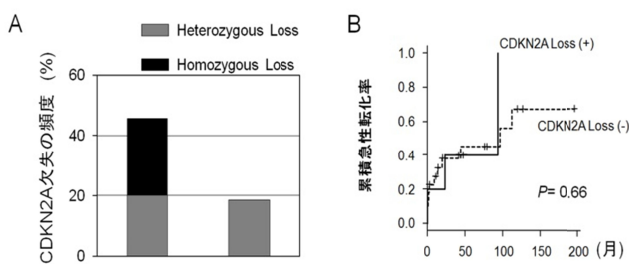
患者情報は共同研究施設より得た。

**(倫理面への配慮)**

全ての患者には適切なインフォームドコンセントを実施し、了承を得ている。また、本研究は愛知県がんセンターにおける IRB の承認を得ている。全ての臨床情報については匿名化して得ている。

**C. 研究結果**

1. CDKN2A の欠失は慢性型 ATL27 例のうち 5 例、急性型 ATL35 例のうち 17 例で認め、有意に急性型で多い異常であった (Fisher ' s exact test,  $P < 0.05$ )。また、急性型 ATL では 10 例が homozygous loss を示しているのに対し、慢性型ではいずれも heterozygous loss であった(図 1A)。慢性型 ATL では CDKN2A の欠失の有無により累積急性転化率に有意な差は認められなかった (図 1B)。

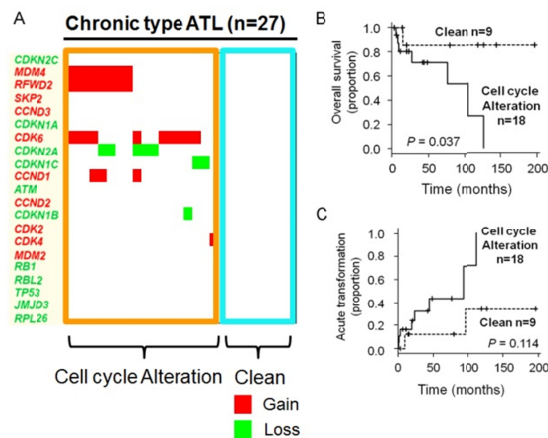


**図 1**

2. CDKN2A には INK4a と ARF という 2 つの transcriptional variants が存在している。昨年までの機能実験から、双方の欠失ともに ATL の病態生理に関与していることを見出している。これら INK4a、ARF はそれぞれ異なる経路で Cell cycle を制

御していることが知られている。このことから、CDKN2A ( INK4a と ARF ) の欠失を含む Cell cycle 関連遺伝子の異常が急性転化に関与している可能性があると考えた。このことを確かめるべく、慢性型 ATL 症例で Cell cycle 関連遺伝子のゲノム異常についてまとめた(図 2A)。そのように分類すると、慢性型 27 例中 18 例が 1 つ以上 Cell cycle 関連遺伝子の異常を有し (Cell cycle Alteration 群) 9 例は一つも認めなかった (Clean 群)。慢性型 ATL では、TP53 部の欠失や RB1 の欠失は認められなかったが、TP53 の機能を障害する *MDM4*、TP53 を分解する *RFWD2* のゲノム増幅を認めた。また *CDKN2A* 欠失と *CDK4* 増幅は mutual exclusion である傾向を認めた。

**図 2**



Cell cycle Alteration 群は Cell cycle の脱制御が生じていると考えられる。Cell cycle Alteration 群の予後は Clean 群に比べて有意に不良であり (Figure 2B) また後に急性転化が生じている傾向を認めた (Figure 2C)。

## D. 考察

本研究から、CDKN2A 欠失を含む Cell cycle 関連遺伝子の異常が急性転化に関与している可能性を見出した。急性型 ATL での CDKN2A の異常の多くは homozygous loss であるのに対し、慢性型では heterozygous loss であった。昨年までに報告した、慢性型から急性転化した症例の連続サンプルでの評価でも、CDKN2A 部は homozygous loss となり急性転化していた。また、CDKN2A を含む他の Cell cycle 関連遺伝子の異常を有する慢性型 ATL は有意に予後不良であり、また後に急性転化しやすい傾向があった。これらのことから、CDKN2A を始めとする Cell cycle 関連遺伝子の異常が協調しあい、急性転化、急性型 ATL の病態を維持している可能性があると考えられる。これら Cell cycle 関連遺伝子異常は、今後慢性型 ATL 患者にとって有用なバイオマーカーとなる可能性がある。

また、9p21.3 欠失の他に、1p13.1 欠失、3q 増幅、10p11 欠失も急性型に特徴的な部位であることを昨年までに報告している。これら異常部にも急性転化に関与する遺伝子が存在すると推測される。急性型症例内においてこれらゲノム異常の相互排他性を認めなかった。このことは、ATL の急性転化機構が遺伝子間の協調作用で生じている可能性を示唆する。

## E. 結論

1. CDKN2A の欠失異常は慢性型 ATL と比較し急性型 ATL に有意に多い異常であったが、CDKN2A 欠失のみでは慢性

型 ATL のバイオマーカーとしては不十分であった。

2. CDKN2Aを含むCell cycle 関連遺伝子のゲノム異常は、慢性型ATL患者の予後予測マーカー、急性転化予測マーカーとなりうる可能性を見出した。
3. 9p21.3部以外のゲノム異常も急性転化に関与している可能性、またより良いバイオマーカーとなりうる可能性があり、今後解析が必要である。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Karube K, Tsuzuki S, Yoshida N, Arita K, Kato H, Katayama M, Ko YH, Ohshima K, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Comprehensive gene expression profiles of NK cell neoplasms identify vorinostat as an effective drug candidate. *Cancer Lett.* 333(1):47-55, 2013.
2. Arita K, Maeda-Kasugai Y, Ohshima K, Tsuzuki S, Suguro-Katayama M, Karube K, Yoshida N, Sugiyama T, Seto M.: Generation of mouse models of lymphoid neoplasm using retroviral gene transduction of in vitro-induced germinal center B and T cells. *Exp Hematol.* 41(8):731-741, 2013.

3. Yamamoto K, Tsuzuki S, Minami Y, Yamamoto Y, Abe A, Ohshima K, Seto M, Naoe T.: Functionally deregulated AML1/RUNX1 cooperates with BCR-ABL to induce a blastic phase-like phenotype of chronic myelogenous leukemia in mice. PLoS One. 8(9):e74864, 2013.

4. Yoshida N, Oda M, Kuroda Y, Katayama Y, Okikawa Y, Masunari T, Fujiwara M, Takashi Nishisaka, Sasaki N, Sadahira Y, Mihara K, Asaoku K, Matsui H, Seto M, Kimura A, Arihiro K, Sakai A.: Clinical significance of sIL-2R levels in B-cell lymphomas. PLoS one 8(11):e78730, 2013.

## 2. 学会発表

1. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鶴池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に關与する. 2013.5.17. 第 53 回日本リンパ網内系学会, 京都, 口演
2. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鶴池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に關与する. 2013.5.18.

第 53 回日本リンパ網内系学会, 京都, ポスター (示説)

3. 都築 忍、片山幸、吉田稚明、在田幸太郎、大島孝一、瀬戸加大.: インビトロで誘導した T 細胞への遺伝子導入によるマウスリンパ腫モデル. 2013.10.05. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, ポスター (示説)

4. 勝呂 幸, 田川博之, 竹内一郎, 吉田 稚明, 在田幸太郎, 都築 忍, 瀬戸 加大.: リンパ腫を形成するクローン細胞の多様性は、臨床病態を反映する. 2013.10.04. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, ポスター (示説)

5. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鶴池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.: Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に關与する. 2013.10.05. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 口演

6. 在田幸太郎、都築忍、大島孝一、杉山敏郎、瀬戸加大.: レトロウイルスによる正常 B 細胞への遺伝子導入を用いた B 細胞リンパ腫マウスモデル. 2013.10.04. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 口演

7. 都築 忍、瀬戸加大.: TEL(ETV6)-AML1(RUNX1)は自己複製能を有する胎児プロ B 細胞を開始する. 2013.10.11. 第 75 回日本血液学会学術集会, 札幌,

## ポスター（示説）

8. 吉田稚明、加留部謙之輔、宇都宮與、塚崎邦弘、今泉芳孝、平良直也、鶴池直邦、海野啓、在田幸太郎、片山幸、都築忍、大島孝一、瀬戸加大.:Cell cycle 関連遺伝子の異常が慢性型 ATL の急性転化に關与する. 2013.10.11. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 口演
9. 在田幸太郎、都築忍、大島孝一、杉山敏郎、瀬戸加大.:新規マウス胚中心由来B細胞リンパ腫モデル 2013.10.11. 第75回日本血液学会学術集会, 札幌, 口演

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし