

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告

高密度アレイ CGH グラスによるゲノム異常解析と標的遺伝子の同定、意義の解析

瀬戸加大 久留米大学医学部 客員教授

研究要旨

慢性型 ATL と急性型 ATL のアレイ CGH 法によるゲノム異常様式の比較から、細胞周期制御遺伝子群の異常が予後に重要な影響を与えることを報告した。しかし、重要な細胞周期制御遺伝子である *TP53* 遺伝子についてはゲノムコピー数の異常が慢性型では全く認められなかった。*P53* についてはコピー数異常以外に塩基配列変異も機能失活において重要な役割を担っているため、シーケンスにより塩基配列を決定したが、検討した症例では全く昨日欠失変異は認められなかったため、慢性型 ATL においては *TP53* 遺伝子異常は関与せず、むしろ急性型を決定する重要な遺伝子であることが明らかとなった。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) は Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) キャリアのうち約 2-7% に発症する T 細胞性腫瘍である。臨床症状から、ATLL は 4 つの病型 (くすぶり型、慢性型、リンパ腫型、急性型) に分類される。以前に私たちは慢性型 ATLL と急性型 ATLL のゲノム異常を比較し、慢性型 ATLL が急性型へと移行する際に細胞周期の脱制御ならびに免疫逃避機構が関与していることを見出した (Yoshida et al. *Cancer Res.* 2014)。 *TP53* は細胞周期を制御する代表的な遺伝子であり、その変異異常が急性型 ATLL で認められることが知られている。今回、本研究では HTLV-1 キャリア期検体、ならびに慢性型 ATLL 検体でその *TP53* 変異が認められるかどうかを検討し、 *TP53* 変異が ATLL 発症や病期進行に関与して

いるかについて検討した。

B. 研究方法

HTLV-1 キャリア期 11 例、慢性型検体 8 例の末梢血検体を対象とし、解析を実施した。ATLL 細胞は CD4 陽性であるため、末梢血中の CD4 陽性細胞より DNA を抽出した (Ohshima et al. *Am J Hematol.* 1997, Yoshida et al. *Cancer Res.* 2014)。今回解析した HTLV-1 キャリア期の検体では、HTLV-1 感染 CD4 陽性細胞が monoclonal あるいは polyclonal に増殖している (Ohshima et al. *Am J Hematol.* 1997)。8 例の慢性型 ATLL のうち 5 例では細胞周期関連遺伝子部のゲノムコピー数異常を有しており、残りの症例は有していなかった (Yoshida et al. *Cancer Res.* 2014)。 *TP53* 変異は、エクソン 4-8 領域を標的としサンガーシーケンス法で解析し、変異同定には、

IARC TP53 database (<http://p53.iarc.fr/>) を用いた。慢性型 ATLL 検体は共同研究者(宇都宮與医学博士、今泉芳孝医学博士)より提供された。

(倫理面への配慮)

本研究は久留米大学における倫理審査委員会により承認を得ている (No. 214)。慢性型 ATLL 検体については各施設よりインフォームドコンセントを得ており、それぞれの施設の倫理委員会により承認を受けている。HTLV-1 キャリア検体については連結可能匿名化検体として同倫理審査委員会より承認を得ている。

C. 研究結果

今回解析した 19 症例 (HTLV-1 キャリア期 11 例、慢性型検体 8 例) では一塩基多型を認めるのみ (SNP rs1042522) で、細胞周期の脱制御をもたらすような TP53 変異はみられなかった。細胞周期関連遺伝子部のゲノムコピー数異常を有しない慢性型症例においても、TP53 変異はみられなかった。

D. 考察

HTLV-1 キャリア期、また慢性型 ATLL 期で TP53 変異はみられないという本解析結果と、急性型 ATL で TP53 変異が多くみられるという既報を合わせると、TP53 変異は急性型病態にとって特に重要であると考えられる。私たちは以前にそれら TP53 変異以外の細胞周期関連遺伝子のゲノムコピー数が慢性型 ATLL の約 56% で生じており、急性型への移行に関与していることを見出している (Yoshida et al. *Cancer Res.* 2014)。ATLL では TP53 変異と細胞周期関連遺伝子の一つである *CDKN2A* の異常は相互排他性の関係にあることが報告されている。これらのことから考えると、慢性型 ATLL での TP53 変異は低頻度である可能性が

ある。HTLV-1 感染細胞が polyclonal ないし、monoclonal に増殖しているキャリア検体においても TP53 変異はみられなかった。このことから、HTLV-1 感染細胞の増生には TP53 変異以外の機構が働いていると考えられる。

E. 結論

TP53 変異は ATLL の急性型の病態、および他病型の急性転化機構に関与していると考えられる。急性型 ATLL 以外の ATLL 病型での TP53 変異頻度は低いと考えられるため、その変異のみだけでなく他の細胞周期関連遺伝子の異常を含めた評価が、急性型への移行を予測するバイオマーカーの確立には有用と考えられる。

F. 健康危険情報

記載無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Utsunomiya A, Choi I, Chihara D, Seto M. Recent advances in the treatment of adult t-cell leukemia- lymphomas. *Cancer Sci.* 2015 Jan 23. doi: 10.1111/cas.12617. [Epub ahead of print]
2. Yoshida, N., Karube, K., Utsunomiya, A., Tsukasaki, K., Imaizumi, Y., Taira, N., Uike, N., Umino, A., Arita, K., Suguro, M., Tsuzuki, S., Kinoshita, T., Ohshima, K., Seto, M. "Molecular Characterization of Chronic-type Adult T-cell Leukemia/Lymphoma" *Cancer Research.* 74(21)6129-6138. 2014.
3. Arita K, Tsuzuki S, Ohshima K, Sugiyama T, Seto M.: Synergy of Myc, cell cycle regulators and the Akt pathway in the development of aggressive B-cell lymphoma in a mouse

- model. *Leukemia*. 28:2270-2272. 2014 (PMID: 25034145)
4. Guo Y, Takeuchi I, Karnan S, Miyata T, Ohshima K, Seto M.: Array-comparative genomic hybridization profiling of immunohistochemical subgroups of diffuse large B-cell lymphoma shows distinct genomic alterations. *Cancer Sci*. 105:481-489. 2014 (PMID: 25034145)
 5. Suguro M, Yoshida N, Umino A, Kato H, Tagawa H, Nakagawa M, Fukuhara N, Karnan S, Takeuchi I, Hocking TD, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M.: Clonal heterogeneity of lymphoid malignancies correlates with poor prognosis. *Cancer Sci*. 105:897-904, 2014. (PMID: 24815991)
 6. Chihara D, Kagami Y, Kato H, Yoshida N, Kiyono T, Okada Y, Kinoshita T, Seto M. :IL2/IL-4, OX40L and FDC-like cell line support the in vitro tumor cell growth of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Res*. 38:608-612. 2014. (PMID: 24679586)
 7. Iqbal J, Wright G, Wang C, Rosenwald A, Gascoyne RD, Weisenburger DD, Greiner TC, Smith L, Guo S, Wilcox RA, Teh BT, Lim ST, Tan SY, Rimsza LM, Jaffe ES, Campo E, Martinez A, Delabie J, Braziel RM, Cook JR, Tubbs RR, Ott G, Geissinger E, Gaulard P, Piccaluga PP, Pileri SA, Au WY, Nakamura S, Seto M, Berger F, de Leval L, Connors JM, Armitage J, Vose J, Chan WC, Staudt LM; Lymphoma Leukemia Molecular Profiling Project and the International Peripheral T-cell Lymphoma Project. Gene expression signatures delineate biological and prognostic subgroups in peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 123:2915-2923. 2014 (PMID: 24632715)
 8. Kato H, Karube K, Yamamoto K, Takizawa J, Tsuzuki S, Yatabe Y, Kanda T, Katayama M, Ozawa Y, Ishitsuka K, Okamoto M, Kinoshita T, Ohshima K, Nakamura S, Morishima Y, Seto M.: Gene expression profiling of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly reveals alterations of characteristic oncogenetic pathways. *Cancer Sci*. 105:537-544. 2014. (PMID: 24581222)
2. 学会発表
 1. Yoshida N, Karube K, Utsunomiya, A., Tsukasaki, K., Imaizumi, Y., Taira, N., Uike, N., Umino, A., Arita, K., Suguro, M., Tsuzuki, S., Kinoshita, T., Nakamura S, Ohshima, K., Seto, M. (2014) “Molecular Characterization of Chronic-Type Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma: Discovery of Molecular Biomarkers for Acute Transformation” Presented at 2014 American society of Hematology Meeting on Lymphoma Biology, Poster no. 35 Colorado Springs, CO.
 2. Yoshida N, Tsuzuki S, Karube K, Takahara T, Suguro M, Nishikori M, Shimoyama M, Tsukasaki K, Ohshima K, Seto M. (2014) “STX11 Acts As a Novel Tumor Suppressor Gene in Peripheral T-Cell Lymphomas” Presented at 56th annual meeting of American Society of Hematology, Abstract no. 1615 San Francisco CA.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得(出願中)

瀬戸 加大・都築 忍・春日井 由美子

「成人T細胞白血病モデル細胞及び動物、
並びにそれらの製造方法」

特願 2014-169608 2014年8月22日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし