

令和元年6月25日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K18338

研究課題名(和文) 稀少疾患の治療病理学：新規遺伝子異常に基づく芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍の解析

研究課題名(英文) An analysis of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm based on a newly identified genetic abnormality

研究代表者

坂本 佳奈 (SAKAMOTO, Kana)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 分子標的病理プロジェクト・研究員

研究者番号：50778008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍(BPDCN)118例の解析により、がん遺伝子MYCの異常の有無により、BPDCNがMYC+BPDCNとMYC-BPDCNの2群に層別化され、組織病理学的にも臨床的にも異なることを示した。BPDCN細胞株を用いた機能解析も行い、BPDCNでは、8q24再構成、MYC発現、および細胞形態が密に関連し、さらに治療において有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BPDCNにおいて、MYC異常(遺伝子再構成および発現異常)が高頻度(約40%)に見られ、かつ、それが細胞形態観察時に推測可能であること、薬剤感受性と関連することを明らかにした。MYC異常に基づく分類は、BPDCNの病態解明と新たな治療戦略開発に寄与するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Through examination of 118 Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm (BPDCN) cases, we revealed that BPDCN can be stratified according to the MYC status. MYC+BPDCN and MYC-BPDCN were different in pathological and clinical aspects. We also performed functional analyses using BPDCN cell lines. In BPDCN, 8q24 rearrangement was strongly associated with immunoblastoid cytomorphology and MYC expression. It is further associated with drug response and could be the biomarkers for potential therapeutic approaches for BPDCN.

研究分野：人体病理学

キーワード：芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

## 1. 研究開始当初の背景

芽球形質細胞様樹状細胞腫瘍 (blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm, BPDCN) は、未分化な形質細胞様樹状細胞由来とされる造血器悪性腫瘍である。急性骨髄性白血病関連疾患に含まれる独立した疾患単位として、WHO 分類第 4 版 (2008 年公刊) で初めて定義された。本邦で年間 10~20 例程度と推定される稀な造血器腫瘍である。典型的には、皮膚病変で発症し当初は化学療法に反応することが多いものの早期に再発、白血化し、生存期間中央値が 1~2 年程度の予後不良疾患である。疾患概念確立の遅れと疾患の稀少性により、病態解明や治療法開発が不十分である。前述のごとく予後不良な疾患であるため、分子病態の理解および分子標的の同定が強く求められている。

組織病理学的には、BPDCN の腫瘍細胞は、中等大の不整形核と少量から中等量の細胞質を持ち、核小体は不明瞭、または 1 つ~数個の小さな核小体が認められるのが典型とされる。しかし申請者らは以前より、上記のような標準型の BPDCN (classic BPDCN とする) とは大きく異なり、類円形空胞状の核、中等量の細胞質と中心性核小体を 1 つ持つ、免疫芽球 (immunoblast) に似た腫瘍細胞を主体とする症例が存在することを認識しており、「免疫芽球様型 BPDCN」(immunoblastoid BPDCN) と名付けていた。近年になって、8q24 領域 (MYC 遺伝子座) の再構成を示し、MYC を発現する immunoblastoid BPDCN の症例を経験したことから、BPDCN の細胞形態と、8q24 再構成および MYC 発現の間に、遺伝子型・表現型相関があるのではないかという着想を得た。予備的な解析からはこの仮説を支持する結果が得られたが、BPDCN における MYC の生物学的意義や、治療戦略における意義は検討できていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、BPDCN 多数例の臨床検体と細胞株を用い、MYC 異常のある群とない群の臨床病理学的特徴、遺伝子発現プロファイルなどの相違を明らかにすること、BPDCN におけるがん遺伝子 MYC の生物学的意義を明らかにすること、それらの結果をもとに BPDCN に対する有効な治療法とバイオマーカー開発への基礎的データを得ること、である。

## 3. 研究の方法

下記のごとく、BPDCN 症例群を用いた臨床病理学的検討と、BPDCN 細胞株を用いた機能解析を行う。

(1) BPDCN と診断された症例群において、腫瘍細胞形態を評価する。並行して MYC 異常の有無を、MYC 免疫染色、および 8q24 領域の蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) により評価する。両解析陽性の場合を MYC+BPDCN、両解析陰性の場合を MYC-BPDCN と定義し、症例群の層別化を行う。2 群間において、臨床的特徴、組織病理学的特徴、予後情報等を統計学的に解析する。

(2) BPDCN 細胞株に対し、shRNA 発現レンチウイルスベクターを用いて MYC をノックダウンし、MYC の腫瘍細胞生存・増殖への影響を解析する。また、MYC+BPDCN、MYC-BPDCN 両群細胞株の遺伝子発現プロファイルなどの生物学的背景を比較検討する。

(3) BPDCN 細胞株に対して、MYC の機能を抑制する薬剤による治療実験 (cell viability assay) を行う。

## 4. 研究成果

### (1) BPDCN の MYC 異常による層別化

#### ①組織病理学的検討

稀少疾患であるため全国 50 以上の機関の協力を得て収集した、154 例の BPDCN と診断または疑診された症例のうち、118 例を組織病理学的レビューにより BPDCN と確定した。細胞形態の解析により、62 例 (53%) が classic BPDCN、41 例 (35%) が immunoblastoid BPDCN に分類された。MYC 異常の有無については 109 例が解析可能であり、41 例 (38%) が MYC+BPDCN、59 例 (54%) が MYC-BPDCN に分類された。解析可能な immunoblastoid BPDCN の全例 (39/39 例) が MYC+BPDCN であり、classic BPDCN の 96% (54/56 例) が MYC-BPDCN であった。すなわち、形態分類と MYC による分類の間に強い遺伝子型・表現型相関が見出された (図 1)。

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

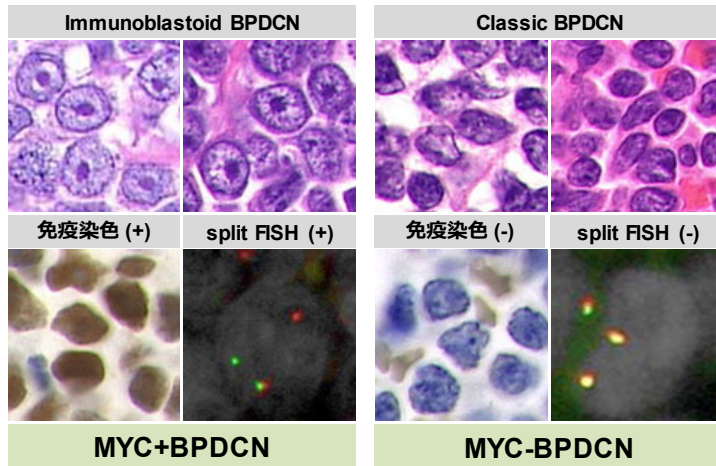


図 1. BPDCN における細胞形態と MYC 異常の関連

## ②臨床的特徴

MYC+BPDCN 症例群と MYC-BPDCN 症例群の臨床的特徴を比較したところ、MYC+BPDCN 症例は MYC-BPDCN 症例に比し発症年齢が有意に高かった (年齢中央値: 72 歳 vs 64 歳)。BPDCN では皮膚病変が 70-90%の症例で見られるが、皮膚病変の分布や性状についても両群間で有意な差がみられた (図 2)。

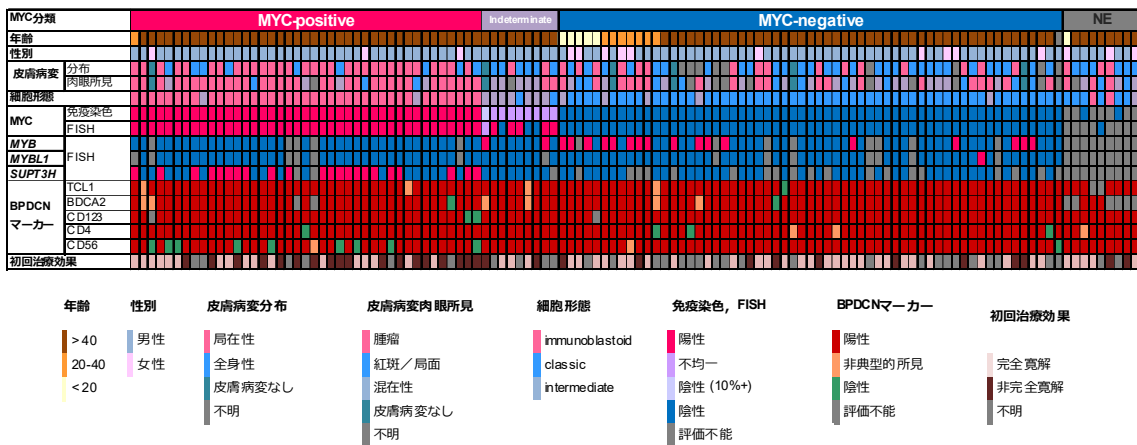


図 2. BPDCN 118 例の臨床病理学的特徴

治療効果、予後に関しては、後方視的研究であるため今後の検証が必要であるが、MYC+BPDCN 症例は MYC-BPDCN 症例に比し生存期間や完全寛解達成率が不良であった (図 2)。以上から、MYC+BPDCN と MYC-BPDCN は臨床的にも複数の点で異なることが示された。

免疫形質についても両群で比較したところ、CD56、CD10 等の陽性率が有意に異なっていた。

## (2) BPDCN における MYC の生物学的意義

BPDCN 細胞株である CAL-1、PMDC05 がそれぞれ MYC+BPDCN、MYC-BPDCN であることを確定し、これらの細胞株を用いて機能解析を行った。cDNA マイクロアレイにより両株の遺伝子発現プロファイルを比較したところ、MYC はその差異をもたらす代表的な分子の 1 つであった。また、shRNA により MYC をノックダウンしたところ CAL-1 の生存性が抑制され、MYC+BPDCN 細胞の生存に MYC が重要な役割を果たしていることが示唆された。

(3) MYC 異常による層別化と薬剤感受性

BPDCN 細胞株に対し、MYC を間接的に抑制する BET 阻害薬、オーロラキナーゼ阻害薬の感受性を検討したところ、PMDC05 に比し CAL-1 の増殖が強く抑制された (図 3)。

これらの結果から、BPDCN では、8q24 再構成、MYC 発現、および細胞形態が密に関連し、さらに治療において有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。なお、PMDC05 に対しては、BCL2 阻害薬が CAL-1 同様に有効であった。

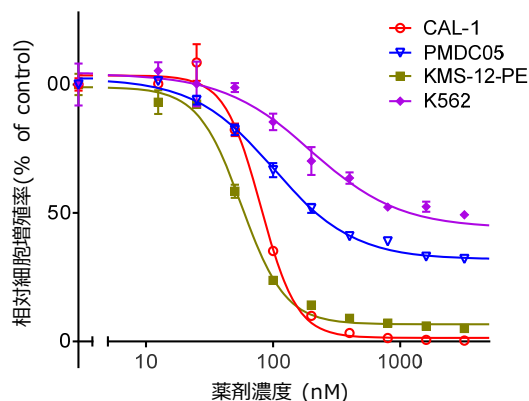


図 3. BPDCN 細胞株の JQ1 (BET 阻害薬) に対する感受性

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ①坂本佳奈、話題 4. 芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍における新たな知見、血液内科、第 78 巻 3 号 (2019 年 3 月 28 日発行)、396-401 頁 (査読なし)
- ②坂本佳奈、竹内賢吾、形質細胞様樹状細胞の機能と病態、病理と臨床、第 37 巻 2 号 (2019 年 2 月 1 日発行)、148-153 頁 (査読なし)
- ③Chang KC, Yu-Yun Lee J, Sakamoto K, Baba S, Takeuchi K. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with immunoblastoid morphology and MYC rearrangement and overexpression. *Pathology*. 2019 Jan;51(1):100-102. DOI: 10.1016/j.pathol.2018.09.058 (査読あり)
- ④Sakamoto K, Katayama R, Asaka R, Sakata S, Baba S, Nakasone H, Koike S, Tsuyama N, Dobashi A, Sasaki M, Ichinohasama R, Takakuwa E, Yamazaki R, Takizawa J, Maeda T, Narita M, Izutsu K, Kanda Y, Ohshima K, Takeuchi K. Recurrent 8q24 rearrangement in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: association with immunoblastoid cytomorphology, MYC expression, and drug response. *Leukemia*. 2018 Dec;32(12):2590-2603. doi: 10.1038/s41375-018-0154-5. (査読あり)

[学会発表] (計 5 件)

- ①坂本佳奈、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍の MYC 異常による層別化、第 4 回リンパ腫分子病態研究会 (2018 年 12 月 23 日、沖縄県市町村自治会館、沖縄県那覇市)
- ②Kana Sakamoto, Ryohei Katayama, Reimi Asaka, Seiji Sakata, Satoko Baba, Hideki Nakasone, Sumie Koike, Naoko Tsuyama, Akito Dobashi, Makoto Sasaki, Ryo Ichinohasama, Emi Takakuwa, Rie Yamazaki, Jun Takizawa, Takahiro Maeda, Miwako Narita, Koji Izutsu, Yoshinobu Kanda, Koichi Ohshima, and Kengo Takeuchi. Recurrent MYC alteration in BPDCN: association with immunoblastoid morphology and drug response. 第 80 回日本血液学会学術集会 (2018 年 10 月 12 日、大阪国際会議場、大阪府大阪市)
- ③坂本佳奈、片山量平、朝賀礼美、坂田征士、馬場郷子、仲宗根秀樹、小池清恵、津山直子、土橋映仁、佐々木純、一迫玲、高桑恵美、山崎理絵、瀧澤淳、前田隆浩、成田美和子、伊豆津宏二、神田善伸、大島孝一、竹内賢吾、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍における高頻度の 8q24 再構成: 細胞形態、MYC 発現、薬剤感受性との関連、第 58 回リンパ網内系学会総会 (2018 年 6 月 29 日 ウィンクあいち、愛知県名古屋市)
- ④Kana Sakamoto, Ryohei Katayama, Reimi Asaka, Seiji Sakata, Satoko Baba, Hideki Nakasone, Sumie Koike, Naoko Tsuyama, Akito Dobashi, Makoto Sasaki, Ryo Ichinohasama, Emi Takakuwa, Rie Yamazaki, Jun Takizawa, Takahiro Maeda, Miwako Narita, Koji Izutsu, Yoshinobu Kanda, Koichi Ohshima, and Kengo Takeuchi. RECURRENCE OF THE 8q24 REARRANGEMENT IN BLASTIC PLASMACYTOID DENDRITIC CELL NEOPLASM AND ITS ASSOCIATION WITH IMMUNOBLASTOID CYTOMORPHOLOGY, MYC EXPRESSION, AND DRUG RESPONSE. The 23rd congress of European Hematology Association (2018 年 6 月 15 日、スウェーデンストックホルム)
- ⑤ Kana Sakamoto, Kengo Takeuchi. Histopathological characteristics of blastic

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

plasmacytoid dendritic cell neoplasm. The 14th Japanese-Korean Lymphoreticular Workshop 2018（2018年1月27日 ザ・プリンス箱根芦ノ湖，神奈川県足柄下郡）

〔図書〕（計 1 件）

①坂本佳奈，竹内賢吾、文光堂、『リンパ腫アトラス』第5版 「芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍」、2018年10月1日発行、464頁（分担：384-387頁）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

①坂本佳奈，竹内賢吾、Introduce my Article、臨床血液、第60巻2号（2019年3月5日発行）、141頁

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。