

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：12102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23879

研究課題名（和文）機械学習を活用した血管免疫芽球性T細胞リンパ腫と類縁疾患の予後予測モデルの構築

研究課題名（英文）Development of genomic prognostic model for angioimmunoblastic T-cell lymphoma and related diseases

研究代表者

末原 泰人 (Suehara, Yasuhito)

筑波大学・附属病院・病院助教

研究者番号：90844811

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：計145例の血管免疫芽球性T細胞リンパ腫(AITL)と末梢性T細胞リンパ腫、非特定型(PTCL-NOS)の症例に対して全エクソームシーケンス解析を行い、ゲノム異常と臨床情報を統合して解析した。ゲノム異常として5番染色体増幅、IDH2変異は共在して起こりやすく、AITLの予後不良因子であることを明らかにした。また複数のTET2変異の存在が予後不良因子であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管免疫芽球性T細胞リンパ腫は一般に予後不良の疾患であるが、長期生存が得られる例もあり、異質性のある疾患である。今回同定した亜分類に基づく標的治療の開発や、予後因子の有無に応じた治療戦略の層別化に繋がっていきと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We performed whole exome sequencing analysis on a total of 145 cases of angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL) and peripheral T-cell lymphoma, unspecified (PTCL-NOS) to integrate genomic aberrations and clinical information. We found that genomic abnormalities such as chromosome 5 amplification and IDH2 mutation are likely to coexist and are poor prognostic factors for AITL. We also found that the presence of multiple TET2 mutations was a poor prognostic factor.

研究分野：悪性リンパ腫

キーワード：血管免疫芽球性T細胞リンパ腫 末梢性T細胞リンパ腫、非特定型 全エクソームシーケンス解析 IDH2変異 5番染色体増幅 TET2複数変異

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫 (AITL) は全身リンパ節腫脹、皮疹、ポリクローナルな免疫グロブリンの増多、好酸球の増多などの自己免疫疾患様の臨床像を示す、TFH を起源とする T 細胞性リンパ腫である。従来、末梢性 T 細胞リンパ腫、非特定型 (Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: PTCL-NOS) と分類されていた疾患の一部に、腫瘍細胞が TFH 形質を示す、節性末梢 T 細胞リンパ腫や濾胞性 T 細胞リンパ腫が存在する事が分かってきた。現在、これらは病理組織像と TFH マーカーとされる表面抗原 (CD10, CXCL13, BCL6, ICOS, PD1) に基づいて診断される。AITL ならびに他の TFH 腫瘍の予後は一般に不良であるが、時に長期寛解・生存を得られる症例が経験される。これを裏付けるデータとして、AITL を含む PTCL のコホートにおいて、診断後 24 ヶ月時点で無イベント生存 (24 months-Event free survival; 24-EFS) を達成した患者群では生存期間中央値未達 (5 年生存率 78%) に対し、24-EFS を達成しなかった患者群では生存期間中央値が 4.9 ヶ月であった (Maurer, JCO 2017)。同一の疾患群ながら大きく生命予後に差があるという点において、現在の組織学的形態や表面抗原に基づいた疾患分類は、同一の診断であっても腫瘍生物学的に均一ではないことが推察される。24-EFS は当然ながら診断時に判断ができず、International Prognostic index (IPI) や Prognostic index for peripheral T-cell lymphoma unspecified (PIT) などの臨床情報に基づいた予後層別化スコアリングも十分ではない。2014 年頃から AITL を代表とする TFH 腫瘍のゲノム異常に関する報告がなされ、*RHOA* G17V 変異が疾患特異的に 60-70% の頻度で認められ、エピゲノム調節因子である *TET2*, *DNMT3A*, *IDH2* の変異もそれぞれ 50-80%, 20-30%, 20-30% の頻度で認めることが判明した。さらに、*TET2* 変異を持つ前がん細胞が *RHOA* 変異の獲得により多段階的に腫瘍が形成されるというメカニズムが示された。一方で、現在の疾患分類での AITL には *RHOA* 非変異群も含まれており、ゲノム異常のステータスは AITL 全体で均質ではなく、ゲノム異常の違いが臨床像の違いを生んでいる可能性がある。現在の病理組織像、表面抗原に基づいた疾患分類に加え、ゲノム異常、遺伝子発現プロファイルの違いによる亜分類が、治療反応性や予後を含む腫瘍生物学的特徴・臨床像をより反映するのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

血管免疫芽球性 T 細胞性リンパ腫 (Angioimmunoblastic T-cell lymphoma: AITL) およびその他の濾胞性ヘルパー T 細胞 (T-follicular helper cell: TFH) の特徴を持つリンパ腫を対象に、ゲノム異常による亜分類を試み、亜分類と予後を含む臨床像との関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) AITL92 症例および PTCL-NOS53 症例 (WHO2008 診断の PTCL-NOS であり、この中に T 濾胞ヘルパー細胞形質を伴う節性末梢性 T 細胞リンパ腫などの濾胞性ヘルパー T 細胞腫瘍を一部含む) 計 145 症例を対象に全エクソーム解析を行った。ライブラリ作製には SureSelect Human All Exon V7 を用いて、Genomon pipeline で mapping を行い一塩基置換 (SNV) と短い挿入欠失 (Indel)、構造異常 (SV) のコールを行った。

(2) 体細胞変異の予測

145 症例中 18 症例では非腫瘍ペア検体が得られたが、127 症例では得られなかったため、体細胞変異を予測するためのランダムフォレストモデルを作成し、それにより体細胞変異をコールした。また、MutSig2CV によりパッセージャー変異と思われる遺伝子変異を除外した。

(3) コピー数解析

GATK4 のツールを用いてコピー数解析を行った。GISTIC により反復性のコピー数変化を検出した。

(4) ゲノム異常と臨床情報の統合

症例全体で 5% 以上に認める遺伝子異常について、症例-遺伝子異常での行列を作成し、R の *nmf* package を用いて非負値行列分解によりクラスター分けを行った。臨床情報とゲノム異常のデータを統合し、全生存期間に影響を与える予後因子について Cox 比例ハザードモデルを用いて検討した。

4. 研究成果

(1) 非腫瘍組織ペア検体がない検体における体細胞変異予測モデルの構築

体細胞変異/生殖細胞系列変異について、機械学習 (ランダムフォレスト) による予測モデルを構築した。モデルの感度 86.6%、特異度 98.4%、陽性的中率 87.8%、陰性的中率 98.2%、F 値 0.86 であり、体細胞変異予測のための因子として重要度が高いのは、変異アレル頻度、いわて東北メディカルバンクでのアレル頻度、EB call での P 値であった。

(2) 全エクソーム解析によるゲノム異常の解析

全エクソーム解析を行い、頻度が高い遺伝子変異として *TET2*, *RHOA*, *DNMT3A*, *IDH2*, *TP53*, *CD28*, *PLCG1* 変異、局所的なコピー数変化としては *CDKN2A* loss, *CD28* gain, *IRF4* gain, 染色体レベルのコピー数変化として 5 番染色体増幅、19 番染色体欠失、4 番染色体増幅、7 番染色体増幅、10 番染色体欠失、21 番染色体短腕欠失を認めた。また、DNA 濃度が低い一部の検体では全ゲノム増幅 (whole genome amplification, WGA) を行なったが、これらの検体ではコピー数変化、構造異常について全ゲノム増幅によるノイズが多く正確な解析が困難であり、以降の解析から除外した。

頻度の高い遺伝子異常について共存性と排他性を検討したところ、*TP53* 変異、*CDKN2A* loss、*ARID1B* loss は染色体レベルのコピー数異常と共存していた (図 1)。また、*TP53* 変異、*CDKN2A* loss は *TET2* 変異、*RHOA* 変異と排他的であった。*IDH2* 変異は 5 番染色体増幅と共存していた。

NMF によるクラスター分類を試みたところ、TFH-type と non-TFH type, さらにクラスター分類が可能なほど遺伝子異常のない "cluster 0" に分類された (図 2, first NMF)。さらに TFH-type を NMF によって分類したところ、*IDH2* 変異・5 番染色体増幅の多い群、*TET2* 変異が複数 (*TET2*-multiple) 群、*TET2* 変異が単独 (*TET2*-single) あるいは 19 番染色体欠失が特徴的な群に分類された (図 2 second NMF)。

(3)ゲノム異常に基づいた予後解析

AITL, PTCL-NOS 全体において、Cox 比例ハザードモデルに基づく単変量解析では *CDKN2A* 欠失、*ARID1B* 欠失、*TP53* 変異、7 番染色体増幅、10 番染色体欠失、*CD28* 増幅、5 番染色体増幅が予後不良因子として抽出された。AITL に限ると、*IDH2* 変異、5 番染色体増幅、*TET2* 変異が複数であることが予後不良因子であった。

今後の計画として、WHO2008 診断に基づく PTCL-NOS を解析対象としているため、免疫染色の追加を行い、この中の TFH 腫瘍を明確にする。さらに、病理所見と変異ステータス/クラスターとの対応を検討する。*TET2* 複数変異において、ロングリードシーケンス解析を検討し、腫瘍抑制遺伝子として多いトランス型 (すなわち両アレルの *TET2* 異常であるのか) 検討をし、論文化する。

図 1. 頻度の高い遺伝子異常の共存と排他

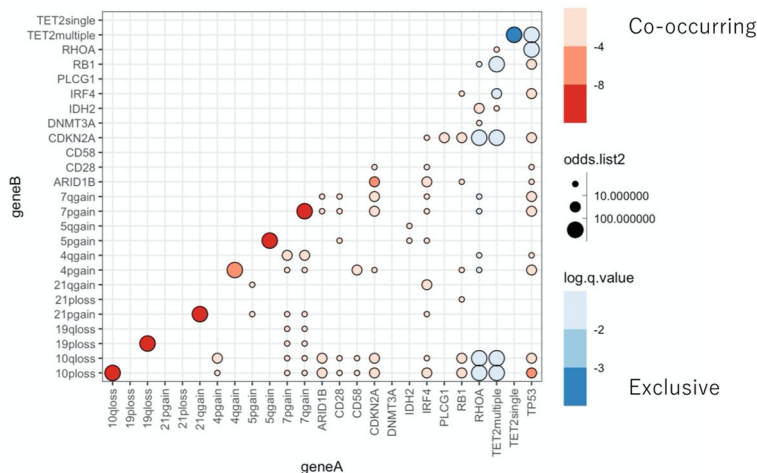
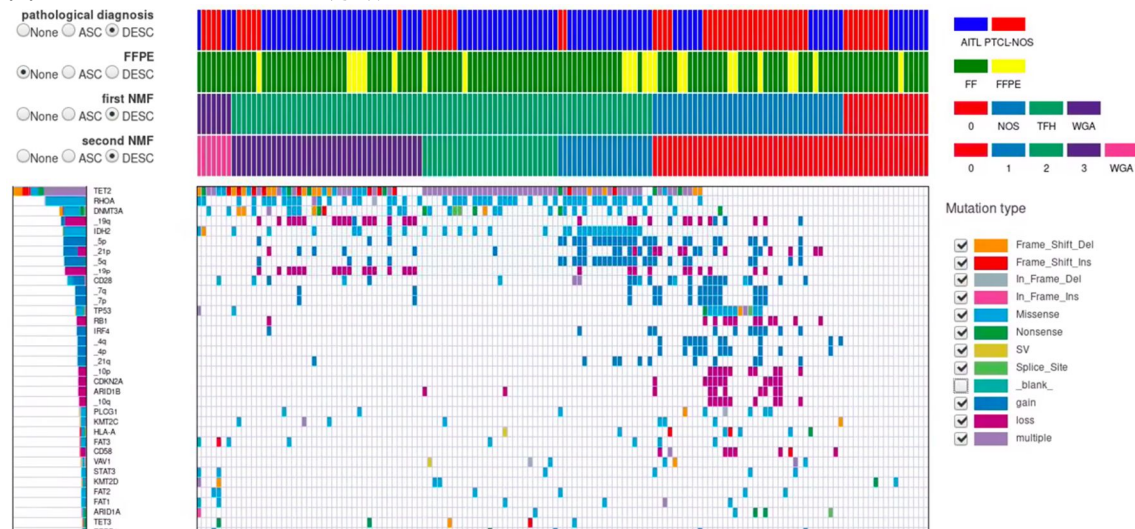


図 2. NMF によるクラスター分類



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shrestha R, Sakata-Yanagimoto M, Maie K, Oshima M, Ishihara M, Suehara Y, Fukumoto K, Nakajima-Takagi Y, Matsui H, Kato T, Muto H, Sakamoto T, Kusakabe M, Nannya Y, Makishima H, Ueno H, Saiki R, Ogawa S, Chiba K, Shiraishi Y, Miyano S, Mouly E, Bernard OA, Inaba T, Koseki H, Iwama A, Chiba S	4. 巻 4
2. 論文標題 Molecular pathogenesis of progression to myeloid leukemia from TET-insufficient status	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 845 ~ 854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2019001324	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suehara Y, Sakata-Yanagimoto M, Hattori K, Kusakabe M, Nanmoku T, Sato T, Noguchi M, Chiba S	4. 巻 110
2. 論文標題 Mutations found in cell free DNAs of patients with malignant lymphoma at remission can derive from clonal hematopoiesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3375 ~ 3381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14176	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fukumoto Kota, Sakata-Yanagimoto Mamiko, Fujisawa Manabu, Sakamoto Tatsuhiro, Miyoshi Hiroaki, Suehara Yasuhito, Nguyen Tran B., Suma Sakurako, Yanagimoto Shintaro, Shiraishi Yuichi, Chiba Kenichi, Bouska Alyssa, Kataoka Keisuke, Ogawa Seishi, Iqbal Javeed, Ohshima Koichi, Chiba Shigeru	4. 巻 136
2. 論文標題 VAV1 mutations contribute to development of T-cell neoplasms in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 3018 ~ 3032
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood.2020006513	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Narita Kentaro, Kobayashi Hiroki, Suzuki Tomo, Ichikawa Daisuke, Yamazaki Kazuto, Terawaki Hiroyuki, Suehara Yasuhito, Miura Daisuke, Takeuchi Masami, Matsue Kosei	4. 巻 20
2. 論文標題 Light Chain Deposition Disease in a Patient With MYD88 L265P Mutation-positive Low-grade B-cell Lymphoma and Monoclonal Immunoglobulin G	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia	6. 最初と最後の頁 e805 ~ e808
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clml.2020.06.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 末原泰人, 坂田（柳元）麻実子, 服部圭一朗, 日下部学, 福本浩太, 藤澤 学, 千葉健一, 白石友一, 宮野 悟, 小川誠司, 末永孝生, 千葉滋
2. 発表標題 血管免疫芽球性T細胞リンパ腫および類縁疾患のゲノム解析
3. 学会等名 第78回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末原泰人, 坂田（柳元）麻実子, 服部圭一朗, 日下部学, 福本浩太, 藤澤 学, 千葉健一, 白石友一, 宮野 悟, 小川誠司, 末永孝生, 千葉滋
2. 発表標題 血管免疫芽球性T細胞リンパ腫および類縁疾患のゲノム解析
3. 学会等名 第81回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 関根郁夫, 村谷匡史, 千葉滋, 野口恵美子（編集）、末原泰人 ,他16名	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学と看護社	5. 総ページ数 104
3. 書名 がんゲノム医療 結果報告書の読み方と患者への伝え方 エキスパートパネルの実際	

1. 著者名 末原泰人, 千葉 滋（担当:分担執筆, 範囲: 造血器腫瘍の基礎 3.造血器腫瘍の遺伝子変異 （1）クローン性造血と造血器腫瘍）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 日本臨床社（東京）	5. 総ページ数 774
3. 書名 造血器腫瘍学（第2版）-基礎と臨床の最新研究動向- 日本臨床 78巻増刊号3	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------