

令和 6 年 5 月 21 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06920

研究課題名(和文) 節性細胞傷害性T細胞リンパ腫に対する網羅的遺伝子解析研究

研究課題名(英文) Extensive genetic analysis of nodal cytotoxic T-cell lymphoma

研究代表者

加藤 省一 (Kato, Seiichi)

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：30584669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：EBV陽性節性末梢性T細胞リンパ腫(EBV+ nPTCL)を対象に全エクソームシーケンシング等の網羅的解析を行った。EBV+ nPTCL22症例において、TET2、DNMT3A、RHOA G17V変異がそれぞれ68%、32%、9%の症例でみられた。TET2変異例のうち4例で、血液組織を正常対応検体として解析を行い、その内3例で腫瘍、非腫瘍血液組織の両者から、同じTET2/DNMT3A変異が見つかった。このようにTET2/DNMT3A変異例の多くでclonal haematopoiesisが強く示唆された。また63%の症例でEBVゲノムの欠失が認められ、腫瘍進展に寄与してい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

EBV陽性節性末梢性T細胞リンパ腫(EBV+ nPTCL)はアジアからの報告が多い予後不良な疾患であるがその分子病態についてほとんど解明されておらず、標準治療もない。本研究では、多くのEBV+ nPTCL症例においてclonal hematopoiesisが背景にある可能性が高く、またEBVゲノム欠失が高頻度に見られ、腫瘍進展に寄与していることが示唆された。また1症例のみであるが、腫瘍細胞中のEBVゲノムにヒトゲノムが組み込まれており、PD-L1高発現に寄与している症例もあった。このように本研究はEBV+ nPTCLの分子病態の一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：EBV+ nodal T- and NK-cell lymphoma (EBV+ nPTCL) is a T-cell lymphoma that presents as a primary nodal disease with T-cell phenotype and EBV harboring on tumor cells. In this study, whole-exome and/or genome sequencing was performed on 22 cases of EBV+ nPTCL. TET2 (68%) and DNMT3A (32%) were observed to be the most frequently mutated genes. The RHOA G17V mutation was identified in two patients. In four patients with TET2/DNMT3A alterations, bone marrow [BM] or spleen were available as paired normal samples. Three out of these four cases had at least one identical TET2/DNMT3A mutation in the BM or spleen. Additionally, the whole part of the EBV genome was sequenced and structural variations were found frequent among the EBV genomes (63%). Overall, the frequent TET2 and DNMT3A mutations in EBV+ nPTCL seem to be closely associated with clonal hematopoiesis and, together with the EBV genome deletions, may contribute to the pathogenesis of this intractable lymphoma.

研究分野：人体病理学

キーワード：EBV陽性節性末梢性T細胞リンパ腫 clonal hematopoiesis RHOA G17V EBV genome

1. 研究開始当初の背景

リンパ節に病変の主座があり、上気道浸潤のない、EBウイルス (EBV) 陽性となる末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL) すなわち EBV 陽性節性末梢性 T 細胞リンパ腫 (EBV+ nodal T- and NK-cell lymphoma [EBV+ nPTCL]) は予後不良な成熟 T/NK リンパ腫である。成熟 T/NK 細胞リンパ腫の中で、EBV も陽性となる疾患としては、リンパ節外臓器に病変の主座があり、上気道を主に侵す、節外性 NK/T 細胞リンパ腫 (NKTL) が広く知られている。EBV+ nPTCL は WHO 分類第 4 版においては NKTL に含まれるべきか、PTCL に含まれるべきか不明であった。我々は、EBV+ nPTCL は中高年者に多く、典型的には CD8 陽性、CD56 陰性であるとともに、80%以上の症例が T 細胞由来であり、NKTL とは臨床病態のみならず、生物学的にも異なることを我々は報告してきた (筆頭著者: 加藤省一、Am J Surg Pathol.、2015;39:462-7. Histopathology. 2012;61:186-199. など)。これらの結果により、WHO 分類改訂第 4 版では EBV+ nPTCL は PTCL の範疇とされることになった (Blood. 2016;127:2375-2390)。さらには EBV+ nPTCL は WHO 分類第 5 版において新規疾患単位として登録された。

2. 研究の目的

以上の如く、我々は世界に先駆けて EBV+ nPTCL の臨床病理学的特徴を報告してきた。しかし、その分子病態は依然として不明のままである。我々は EBV+ nPTCL を対象に全エクソームシーケンスを中心とした網羅的解析を行い、分子病態の解明を目指す。既に報告されている PTCL-NOS や NKTL におけるゲノム異常との違いとともに、EBV+ nPTCL における分子異常と臨床病理学的特徴との関係が明らかになれば本腫瘍の生物学的な理解が深化するものと考えられる。

3. 研究の方法

EBV+ nPTCL22 症例について、全エクソームシーケンスもしくは全ゲノムシーケンス、EBV ゲノムのシーケンスを行った。そのうち 13 例は正常対応検体についてもシーケンスを行った。13 例の正常対応検体のうち 4 例については血液組織が豊富である骨髓もしくは脾臓を正常対応検体として解析を行った。また免疫染色として、T 細胞受容体 (TCR) や CD10、BCL6、CXCL13、ICOS、PD-1 といった follicular helper T-cell (TFH) マーカーや PD-L1 (22C3) などの免疫染色を施行し、ゲノム異常の結果との比較検討を行った。

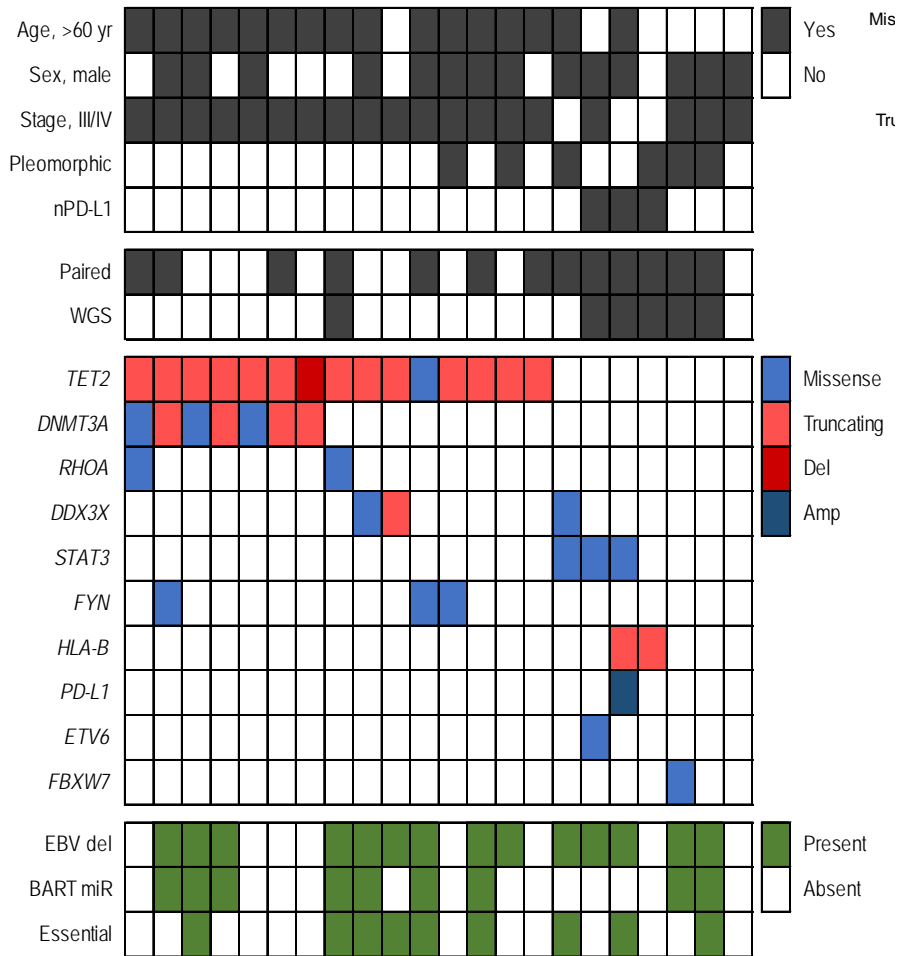
4. 研究成果

全エクソームシーケンスもしくは全ゲノムシーケンスにより EBV+ nPTCL22 症例において、*TET2* 変異が 68%、*DNMT3A* 変異が 32%、*RHOA* G17V 変異が 9%の症例で陽性であった (図 1)。*DNMT3A* 変異もしくは *RHOA* G17V 変異がある症例は全例 *TET2* 変異も伴っていた。これらの *TET2*、*DNMT3A* 変異は機能欠失型の変異と考えられた。*TET2*/*DNMT3A* 変異陽性例のうち 4 例で、骨髓もしくは脾臓を正常対応検体として解析を行った。なお正常対応検体では腫瘍細胞は 1%未満であった。上記 4 例中 3 例で、腫瘍、非腫瘍骨髓/脾臓組織の両者から、同じ *TET2*/*DNMT3A* 変異が、VAF が 0.05 を越える頻度で見つかった (図 2)。このように *TET2*/*DNMT3A* 変異陽性例の多くでは CHIP (clonal haematopoiesis of indeterminate potential) が背景にあることが強く示唆される結果であった。

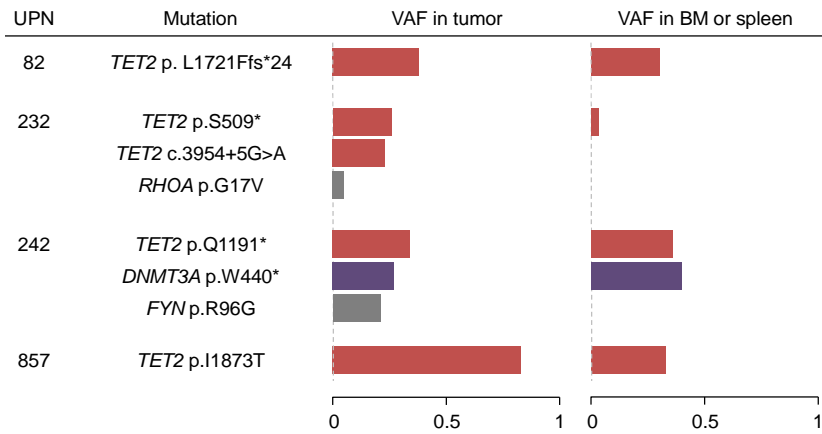
上記変異と臨床病理学的特徴との関係を比較検討した。21 症例の EBV+ nPTCL のうち、*TET2* 変異、さらに *DNMT3A* 変異もある症例は特に予後不良であった (図 3)。また *TET2*/*DNMT3A* 変異陽性例は有意に高齢発症であり、臨床病期進行例が多く、一方 neoplastic PD-L1 (nPD-L1) 陽性率が有意に低かった。

EBV ゲノムについてシーケンスを行ったところ、63%の症例で EBV ゲノムの欠失が認められた (図 1)。この頻度は過去に報告されている NKTL や慢性活動性 EBV 病より高率であった。なお EBV ゲノムの欠失は伝染性単核症や移植後リンパ増殖性疾患では報告されていない。また EBV ゲノムのウイルス粒子産生に必須な遺伝子の欠失は、xenograft model においてリンパ腫発生を促進することが報告されている。また興味深いことに、22 例中、1 例で PD-L1 の構造異常認められ、同症例では EBV ゲノムに、ヒト第 9 染色体の一部がタンデムに組み込まれ、DOCK8/PD-L1 融合遺伝子を形成し、さらには PD-L1 の 3' -UTR の切断を伴っていた (図 4)。実際この症例では免疫染色で PD-L1 の発現が更新していた。EBV ゲノムにヒトゲノムが取り込まれた報告は我々が調べた範囲では確認できない。

☒ 1



☒ 2



☒ 3

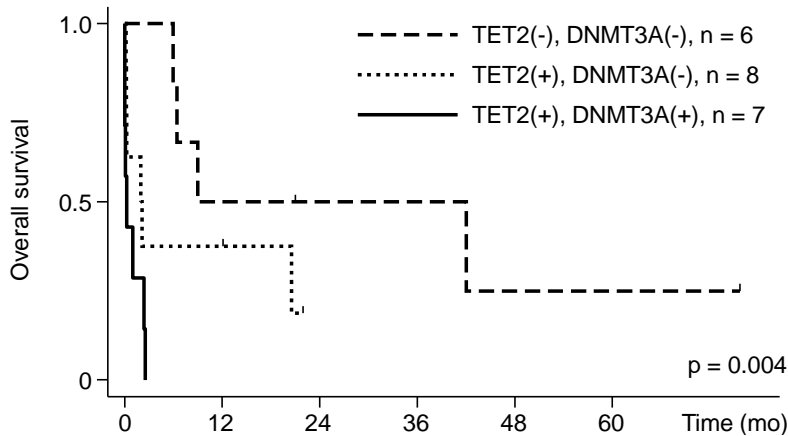
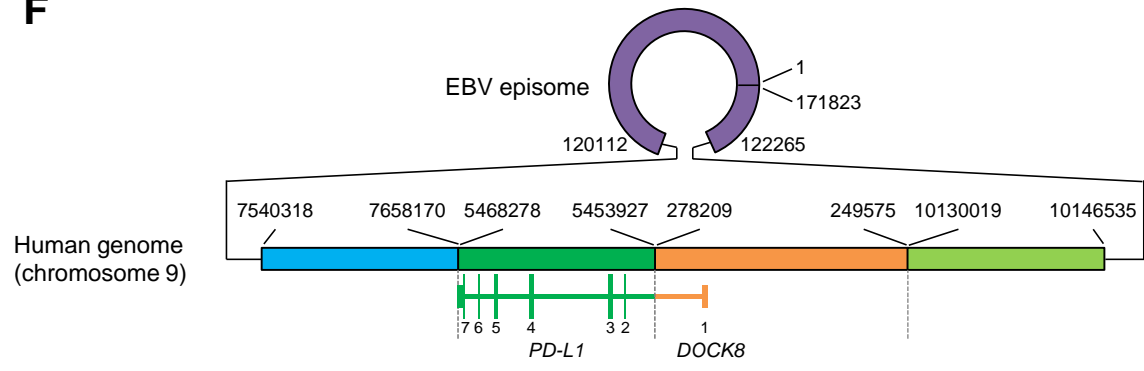


图 4

F



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kato Seiichi, Hamada Motoharu, Okamoto Akinao, Yamashita Daisuke, Miyoshi Hiroaki, Arai Haruto, Satou Akira, Gion Yuka, Sato Yasuharu, Tsuyuki Yuta, Miyata-Takata Tomoko, Takata Katsuyoshi, Asano Naoko, Takahashi Emiko, Ohshima Koichi, Tomita Akihiro, Hosoda Waki, Nakamura Shigeo, Okuno Yusuke	4. 巻 8
2. 論文標題 EBV+ nodal T/NK-cell lymphoma associated with clonal hematopoiesis and structural variations of the viral genome	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 2138 ~ 2147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2023012019	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤省一
2. 発表標題 成熟T/NK細胞リンパ腫における 新疾患分類とその限界
3. 学会等名 第63回日本リンパ網内系学会学術集会・総会 シンポジウム1（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	奥野 友介 (Okuno Yusuke) (00725533)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・教授 (23903)	

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
---------	---------