

機関番号：83901  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2009～2010  
 課題番号：21790930  
 研究課題名（和文） 成人T細胞性白血病／リンパ腫の急性型とリンパ腫型を区別する機能的分子の同定  
 研究課題名（英文） Identification of molecular basis of acute- and lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma  
 研究代表者  
 中川 雅夫（NAKAGAWA MASAO）  
 愛知県がんセンター（研究所）・遺伝子医療研究部・主任研究員  
 研究者番号：80435859

研究成果の概要（和文）：急性型成人T細胞性白血病／リンパ腫は末梢血に白血病細胞を有するが、リンパ節病変を伴う症例も多数存在する。詳細なゲノム異常解析から、①このような症例の一部はリンパ腫型のゲノム異常を有する、②異なる付加的ゲノム異常を有する腫瘍クローンがリンパ節に複数存在し、その一部が白血病細胞として末梢血に流れ出ている可能性を初めて明らかにした。急性型の一部症例は、白血化したリンパ腫型であることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：Acute-type adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) cases frequently have lymph node lesions. I performed detailed genomic analysis and clarified; 1) a part of such cases had genomic alterations similar to those frequently found in lymphoma-type ATLL, 2) multiple subclones with various additional genomic alterations were frequently found in a lymph node of individual cases and a selected subclone among the lymph node subclones appeared in peripheral blood. These new findings indicate that a part of acute-type ATLL cases should be categorized as lymphoma-type ATLL with leukemic change.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：成人T細胞性白血病／リンパ腫、アレイ CGH、遺伝子発現解析

1. 研究開始当初の背景

成人T細胞性白血病／リンパ腫 (ATLL) はHTLV-I

ウイルスキャリアの一部に発症するリンパ腫であり、日本においては末梢型T細胞リンパ腫 (PTCL) の中で最も頻度が高い。リンパ腫の

病型分類として世界で最も標準的に用いられているWHO分類において、ATLLは明確な一つの疾患単位と規定されている。ATLLはさらに臨床亜型として白血病の病態を示す”急性型”とリンパ腫である”リンパ腫型”に分類されている。白血病とリンパ腫は全く異なる臨床病態である。このような二つの病態がひとつの疾患単位の亜型として扱われてきた原因として、以下があげられる。

(1) 現在の治療では予後に有意差はみられない

(2) それぞれが異なる分子病態を持つという知見に乏しい

(3) 白血病とリンパ腫病変を両方持つような中間的ATLL症例が存在する

しかし、関連研究の発展により近年その状況は変わりつつある。(1)に関してはZidovudine (AZT)/インターフェロン $\alpha$ 併用療法が”急性型”には非常に有効で、”リンパ腫型”には効果に乏しいという知見が複数のグループから報告され、現在前向き試験が計画されつつある。このような状況から”急性型”と”リンパ腫型”を明確に区別することが一層重要な問題となってきている。

明確な区別をするためには(2)両者が明確に異なる分子病態を有することを示すことが重要である。申請者が所属する研究室において、過去にアレイCGH法をATLLに対して用い、典型的な”急性型”と”リンパ腫型”では全く異なるゲノム異常を持つことを世界に先駆けて明らかにしている(Oshiro et al., *Blood*, 2006)。この事実は両者の分子病態が明確に異なることを意味

しており、(2)に対する重要な知見の一つとなっている。

2. 研究の目的

前出(3)中間的ATLL症例はこれまでの臨床分類の定義上全ての症例が”急性型”に分類されていた。しかしながら、これらが本当に”急性型”の分子病態を有しているのかどうかはこれまで全く解析が加えられてこなかった。実際、リンパ節病変が臨床症状の主体であるにもかかわらず、ごく少量のATL白血病細胞を末梢血に認める症例も多数存在するが、このような症例は”リンパ腫型”の分子病態を有している可能性がある。中間的症例が”急性型”あるいは”リンパ腫型”のどちらの分子病態を持つのかを明らかにすることは、今後AZT/インターフェロン $\alpha$ 併用療法のような新しい治療方法の評価に不可欠な要素であることは明白である。

そこで本研究は、中間的ATLL症例の分子病態解析に焦点を当てた。具体的には下記の2つを目的とした。

(1) 白血病とリンパ腫病変を両方持つような中間的ATLL症例に対してアレイCGH法を行い、ゲノム異常様式として”急性型”か”リンパ腫型”を明らかにする。

(2) ”急性型”と”リンパ腫型”の発現解析を行い、両者を明確に区別できる遺伝子群を抽出する。

3. 研究の方法

(1) 白血病とリンパ腫病変を両方持つような中間的ATLL症例に対してアレイCGH

## 法とを行い、ゲノム異常様式として”急性型”か”リンパ腫型”を明らかにする。

白血病とリンパ腫病変を両方持つような中間的症例 13 症例の末梢血病変とリンパ節病変のペア検体を集積する。これらに対して Agilent 社のオリゴアレイ CGH を行い、ゲノム異常を検出する。これらをすでに研究室に蓄積済みである典型的な”急性型”と”リンパ腫型”のゲノム異常パターンと (Oshiro et al. *Blood*, 2006) 比較する。

さらに同一症例における末梢血病変とリンパ節病変のペア検体のゲノム異常を比較することで、両者の遺伝子異常に何らかの差や特徴がみられるのかを検討する。

## (2) ”急性型”と”リンパ腫型”の発現解析を行い、両者を明確に区別できる遺伝子群を抽出する。

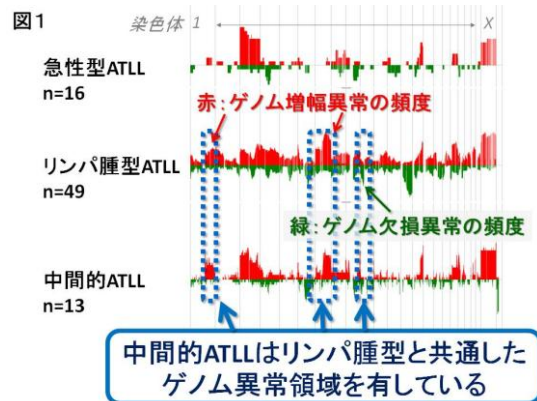
典型的な”急性型” ATLL 症例 8 症例と中間的 ATLL 症例 6 症例について、Agilent 社の 4x 44K オリゴ DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現データを集積する。これら 2 群を比較検討し、統計学的処理を通して両者を明確に区別できる遺伝子群を明らかにする。

### 4. 研究成果

## (1) 白血病とリンパ腫病変を両方持つような中間的 ATLL 症例に対してアレイ CGH 法とを行い、ゲノム異常様式として”急性型”か”リンパ腫型”を明らかにする。

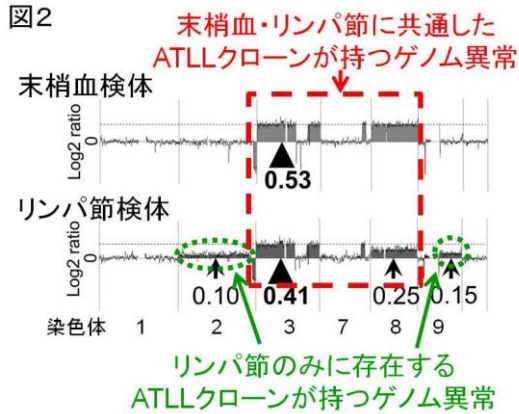
白血病とリンパ腫病変を両方持つような中間的症例 13 例を全てまとめてゲノム異常の頻度グラフを描いた場合、典型的リンパ腫

型 ATLL と共通したゲノム異常領域を有していることが分かった (図 1)。すなわち、ATLL 中間的症例の一部には典型的なリンパ腫型と同一病態が含まれていることを明らかにできた。



さらに、同一症例でのリンパ節・末梢血ペア検体のゲノム異常を詳細に比較検討した。リンパ節検体においては、様々にゲノム異常が付加された腫瘍クローンが複数存在する症例が高頻度 (9例;70%) に存在していることを見出した。さらに重要なことには、この9症例の中の5症例ではリンパ節・末梢血ペア検体のゲノム異常にいくつかの違いが見られた。この違いを詳細に解析すると、リンパ節内に存在する複数クローンの中の一部クローンのみが末梢血腫瘍細胞のゲノム異常として検出されていることを見出した (図 2)。つまり、このような症例ではリンパ節が腫瘍の主座であり、リンパ節内で腫瘍細胞のクローナルエボリューションが起き、ゲノム異常が積み重なって複数の腫瘍クローンが生まれて行く。その中の一部が末梢血中に流れ出し、ATL白血病細胞として出現していることを示している。ATLL 中間的症例の一部には典型的なリンパ腫型が白血化した症例が含まれている事を強く支持する重要な発見である。これらの研究成果は、ATLLの臨床病型を再検討する必要性を分子病態から指摘する画期的な発見であり、論文

報告した(Umino et al., *Blood*, 2011)。



## (2) ”急性型”と”リンパ腫型”の発現解析を行い、両者を明確に区別できる遺伝子群を抽出する。

典型的”急性型”ATLL症例8症例と中間的ATLL症例6症例の遺伝子発現データを集積し、これらの遺伝子発現パターンを比較した。しかしこの2群において、明確な違いを見出すには至らなかった。このことは、ゲノム異常の違いが示すほど、ゲノムワイドな発現異常様式は異なっていないことを示しているのかもしれない。ある特定の遺伝子群、例えばある特定のパスウェイ上にある遺伝子群や正常T細胞の機能的サブセットに特有の発現を示す遺伝子などに注目して解析を加える工夫が必要かもしれない。また、さらに症例数を積み重ねることで、解析の精度を上げて行く努力も必要であると思われる。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① Umino, A., Nakagawa, M., et al. (他4名、2番目) Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node. *Blood*, 2011, In press. 査読有り。

- ② Kato, H., Kagami, Y., Nakagawa, M., et al. (他5名、3番目) IL-4/CD40L Co-Stimulation Induces Long-Term Proliferation for CD10-Positive Germinal Center B Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *The Open Leukemia Journal*, 3: 60-68, 2010. 査読有り。
- ③ Seto, M., Honma, K., Nakagawa, M. Diversity of genome profiles in malignant lymphoma. *Cancer Sci.*, 101: 573-578, 2010. 査読有り。
- ④ Honma, K., Tsuzuki, S., Nakagawa, M., et al. (他4名、3番目) TNFAIP3/A20 functions as a novel tumor suppressor gene in several subtypes of non-Hodgkin lymphomas. *Blood*, 114: 2467-2475, 2009. 査読有り。

[学会発表] (計3件)

- ① 中川 雅夫、BCL2、c-MYC、CCND1は協調的に働き、正常B細胞をトランスフォームさせる、第69回日本癌学会学術総会、2010.9.22、大阪
- ② 海野 啓、アレイCGH法を用いて明らかになった急性型成人T細胞性白血病リンパ腫と末梢T細胞性リンパ腫の類似性、第69回日本癌学会学術総会、2010.9.22、大阪
- ③ 中川 雅夫、Gene expression profiling can divide Acute-type ATLL into several groups by using a specific gene set of Lymphoma-type、第68回日本癌学会学術総会、2009.10.2、横浜

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

中川 雅夫 (NAKAGAWA MASAO)

愛知県がんセンター(研究所)・遺伝子医療研究部・主任研究員

研究者番号: 80435859

#### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

#### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

