

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09494

研究課題名(和文)次世代シーケンサーによるMRD検出法に基づくPOEMS症候群の治療戦略の確立

研究課題名(英文) Establishment of treatment strategy for POEMS syndrome based on MRD detection method with next generation sequencer

研究代表者

堺田 恵美子 (Sakaida, Emiko)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：60422218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：POEMS症候群は多発神経障害等の多彩な症状を呈する形質細胞腫瘍関連疾患であるが、その病態は十分に解明されていない。モノクローナル形質細胞の免疫グロブリン軽鎖(IGL)V領域はIGLV1-44もしくは1-40のみの二つのgermlineに集約されることが示されており、POEMS患者骨髄genomic cDNAを用い、IGLVのgene rearrangementについてNGSにて解析を行った。この結果、上記dominant typeのcloneを検出し、このclone sizeをモニタリングすることで疾患statusと良好に関連しMRDとして使用可能であることを見出し、次期臨床試験を計画する。

研究成果の概要(英文)：POEMS syndrome is a rare plasma cell dyscrasia. The pathogenesis is poorly understood, but monoclonal plasma cells are restricted and these immunoglobulin lambda light chain (IGL) V region genes are derived from only two germlines, either IGLV1-44 or 1-40. We analyzed the clonal IGLV gene rearrangements of genomic DNA samples of bone marrow mononuclear cells using next generation sequencing (NGS). The dominant clonal IGLV gene rearrangements clones of POEMS syndrome-specific germline sequences were significantly increased. In some cases, IGLV gene rearrangement clone was not detected as significant increase, but was detected using cDNA samples by heteroduplex analysis and Sanger sequencing, suggesting that the quite small number of monoclonal plasma cells may produce large quantity of mRNA of monoclonal proteins. Their clone sizes decreased and increased accompanying with disease status. The monitoring of clone size as MRD is useful for treatment decision in POEMS syndrome.

研究分野：血液

キーワード：POEMS症候群 次世代シーケンサー 微小残存病変

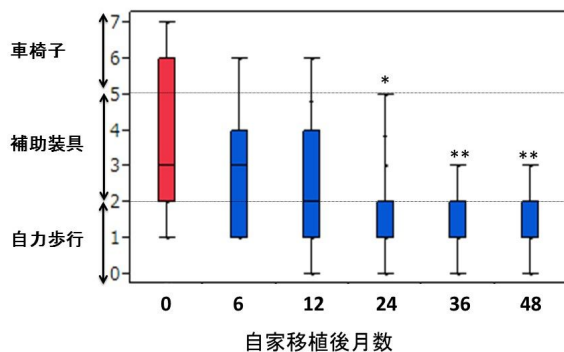
1. 研究開始当初の背景

POEMS 症候群(Crow-Fukase 症候群, 高月病) は、形質細胞増殖症 (plasma cell dyscrasia) を基盤に、多発神経炎による末梢神経障害、臓器腫大、浮腫・胸腹水、皮膚症状(剛毛、色素沈着、血管腫)、骨硬化性病変、Mタンパク血症などを呈する全身性疾患であり、稀ではあるが、本邦で比較的頻度の高い疾患である。成人に多く、形質細胞腫瘍の1-2%と推定される。多彩な症状の中で、特に末梢神経障害が患者のADLを著しく障害し、末期には四肢麻痺、多臓器不全に至る予後不良な疾患である。1996年に本症候群患者血清中で血管内皮増殖因子(VEGF)が異常高値であり、血清 VEGF 値が病態の重症度と相関することが報告された(Watanabe et al. Lancet 1996)。また、POEMS 症候群では、モノクローナル M 蛋白軽鎖はほぼ全例で **λ 型** であるという、他の形質細胞腫瘍では見られない極めてユニークな特徴を有することが報告された。我々はさらに、この **λ 型** 再構成軽鎖は全例 V 1 subfamily に属し、しかも IGLV1-40 と IGLV1-44 というわずか 2 種類の特定の germline 遺伝子に由来することを明らかにした。(Abe D et al. Blood 2008)

我々は千葉大学神経内科と協力し、これまで多数例の POEMS 症候群患者の治療成績を報告し、多発性骨髄腫に準じて自家末梢血幹細胞移植、サリドマイドなどの新規薬剤を含む治療を行うことで著しく ADL を改善し、予後を改善させることを明らかにしてきた。(Kuwabara S, Nakaseko C et al. Cochrane Database Syst Rev 2012, 他多数)

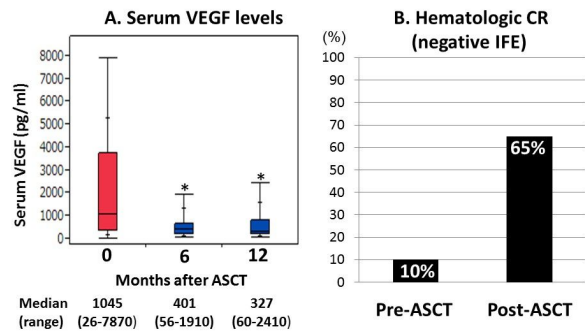
我々はこれまでに 26 例の POEMS 症候群患者に自家移植を行ってきたが、移植後は神経障害の指標となる Overall Neuropathy Limitation Score(ONLS)は改善し、発症時は

図1 自家移植後ONLSの改善



車いすや歩行介助具が必要であった患者が、移植後には自立歩行可能となる程の劇的な神経学的改善を全例で認め(図1)、血清 VEGF 値も有意に低下することを示し、移植後生存率の改善を認めた(図2)。しかし一方で、移植後3年のPFSは81%、5年で60%と移植後の再燃が問題となることも明らかとなって

図2 自家移植後VEGF及び血液学的奏効



Leuk 2014)。

また、申請者らは、日本造血細胞移植学会データベース(TRUMP)を用いて、「本邦における POEMS 症候群移植例 94 例の長期予後の解析」を行い、多数例における自家移植の有用性と問題点を明らかとした。(Manako-Kawajiri C, Sakaida E et al. BBMT 2018) この結果、当科の解析結果と同様に自家移植により一時は有意な症状の改善を認め、生存期間の改善を示した一方で、移植後3年を経過した症例の4割以上の症例は移植後再発・再燃を来し、治療に難渋している症例が多いことが判明した(図3)。

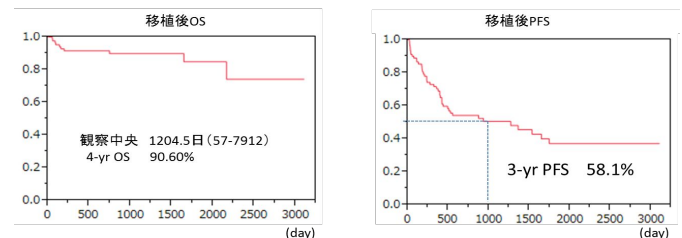


図3 本邦における多数例の自家移植成績

これは、移植後に残存する腫瘍細胞(微小残存病変:MRD)が再増殖する可能性と、移植片に含まれる腫瘍細胞が、移植後の疾患増悪に関与している可能性が考えられ、移植後の地固め・維持療法が有用である可能性が示唆されるが、その妥当性については未だ検証がなされず不明である。同検討においても VEGF 値は寛解時には低値を示し、再発時に高値を呈する症例が多いものの、必ずしも疾患再燃を正確に予測しうるマーカーとはなり得なかった。そのため、MRD をより早期に検出する新たな検査法の確立が望まれる。近年、多発性骨髄腫では、マルチカラーフローサイトメトリー法や症例特異的 IgH 遺伝子再構成を利用した PCR 解析が MRD 検出に利用され、免疫学的及び分子学的 CR(mCR)例にて長期生存が得られることが示されている。最近、次世代シーケンサーと PCR 法を組み合わせることで、さらに 10⁻⁶ レベルまで検出感度を向上させた迅速な MRD 検出法が開発され、従来の検査法で検出困難であった MRD の検出が、本検査法を使用することで可能となった

(JM-Lopez, et al. Blood 2014)。本方法では末梢血検体でも測定が可能とされる。この方法を用いることで、微小な形質腫瘍性腫瘍が主病因とされる本症候群患者の予後予測のみならず、発症機序を解明する端緒となる可能性もあると期待される。

2. 研究の目的

POEMS 症候群は形質細胞増殖症(plasma cell dyscrasia)を基盤として、高 VEGF 血症と特定のモノクローナル 鎖 M タンパクを伴い、多彩な全身症状を呈する予後不良な疾患であるが、わずかに存在する形質細胞がその疾患発症の鍵を握り、多発性骨髄腫に準じた自家末梢血幹細胞移植、サリドマイドなどの新規薬剤を用いた治療により、ADL、生存期間を改善しうることが示されてきた。しかし POEMS 症候群の発症機構は不明な点が多く、その治療においても移植後の再発・再燃が問題となることも明らかとなってきた。本研究では、自家移植後に次世代シーケンサーを用いた微小残存病変(MRD)の評価に基づいた地固め・維持療法の有用性を検討し、治療方針決定の妥当性、予後を解析することで、POEMS 症候群に対する新たな治療体系を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

当科にて自家末梢血幹細胞移植を施行した POEMS 症候群患者の保存骨髄細胞検体を用いて次世代シーケンサーによる疾患特異的モノクローナル 鎖遺伝子の検出法を確立する。さらに末梢血保存細胞においても同様の解析が行えるか検討を行う。移植非適応症例の治療後の MRD 検出の結果と比較する。

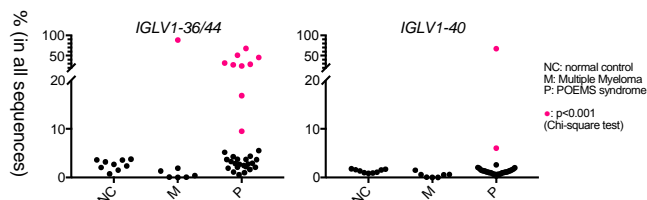
次に POEMS 症候群患者における地固め・維持療法を施行し、MRD の解析検査の有用性を検証する臨床試験を行い、次世代シーケンサーを用いて移植前、移植後、地固め療法、維持療法後の MRD 検査を行い、予後改善につながるかを検証する。

4. 研究成果

POEMS 症候群のモノクローナル形質細胞の免疫グロブリン軽鎖(IGL)V 領域は IGLV1-44 もしくは 1-40 のみの二つの germline に集約されることを既存の検体を用いて検証を行った。(図 4)

POEMS 患者 30 名の骨髄 genomic cDNA を用い、IGLV の gene rearrangement について NGS にて解析を行った。11 例において dominant IGLV gene rearrangements clone が検出された。(36.7%; IGLV1-44: n = 9, IGLV1-40: n = 2)

図 4



検出できなかった検体においては、heteroduplex analysis と Sanger sequencing 法を用いて検討を行った。これらの検体においては、clone サイズが微小であるために検出が困難であると考えられた。Dominant clone サイズと POEMS 症候群の診断時の疾患 status とは関連は見出せなかったが、その後の治療により、クローンサイズは病勢とともに増減し、MRD として有用であることが示唆された。

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 2 件)いずれも査読あり

Ohwada C, Sakaida E, Kawajiri-Manako C, Nagao Y, Oshima-Hasegawa N, Togasaki E, Muto T, Tsukamoto S, Mitsukawa S, Takeda Y, Mimura N, Takeuchi M, Shimizu N, Misawa S, Iseki T, Kuwabara S, Nakaseko C. Long-Term Evaluation of Physical Improvement and Survival of Autologous Stem Cell Transplantation in POEMS Syndrome. Blood. **2018** Mar 29. pii: blood-2017-07-795385. doi: 10.1182/blood-2017-07-795385.

Kawajiri-Manako C, Sakaida E, Ohwada C, Nakaseko C, et al. The efficacy and long-term outcomes of autologous stem cell transplantation in POEMS syndrome: A nation-wide survey in Japan. Biol Blood Marrow Transplant. **2018** Feb 1. pii: S1083-8791(18)30042-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.01.026. PMID:29409882

〔学会発表〕(計 11 件)

永尾侑平, 三村尚也, 竹田淳恵, 吉田健一, 塩澤祐介, 大島基彦, 青山和正, 更屋敦則, 長谷川嘉則, 白石友一, 千葉健一, 田中洋子, 川尻真子, 千華, 大島-長谷川渚, 塚本祥吉, 酒井紫緒, 竹田勇輔, 大和田千佳子, 武内正博, 堺田恵美子, 井関徹, 三澤園子, 宮野悟, 小原収, 横手幸太郎, 桑原聡, 真田昌, 岩間厚志, 小川誠司, 中世古知昭. POEMS 症候群における形質細胞の網羅的遺伝子解析. 第 79 回日本血液学会総会, 東京, 2017/10/20-22

永尾侑平, 三村尚也, 竹田淳恵, 大島基彦, 吉田健一, 竹田勇輔, 大和田千佳子, 武内正博, 堺田恵美子, 井関徹, 桑原聡, 真田昌, 岩間厚志, 小川誠司, 中世古知昭. POEMS 症候群における形質細胞の遺伝学的特徴. 第 42 回日本骨髄腫学会学術集会, 東京, 2017/5/27-28

中世古知昭, 真子千華, 三村尚也, 福世宏枝,

福世真樹, 永尾侑平, 大島渚, 塚本祥吉, 高石浩司, 酒井紫緒, 竹田勇輔, 大和田千桂子, 武内正博, 井関徹, 三澤園子, 桑原聡, 金田篤志, 堺田恵美子. POEMS 症候群における NGS を用いた 鎖レパトア解析によるクローナル 鎖再構成と疾患活動性の解析. **第 42 回日本骨髓腫学会学術集会**, 東京, 2017/5/27-28

永尾侑平, 三村尚也, 竹田淳恵, 大島基彦, 吉田健一, 堺田恵美子, 横手幸太郎, 桑原聡, 眞田昌, 岩間厚志, 小川誠司, 中世古知昭. POEMS 症候群における形質細胞の網羅的遺伝子解析. **第 54 回日本臨床分子医学会学術集会**, 東京, 2017/4/14-16

Yuhei Nagao, Naoya Mimura, June Takeda, Motohiko Oshima, Kenichi Yoshida, Yusuke Shiozawa, Kazumasa Aoyama, Atsunori Saraya, Shuhei Koide, Yuichi Shiraiishi, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Chika Kawajiri-Manako, Nagisa Hasegawa, Shio Sakai, Yusuke Takeda, Chikako Ohwada, Masahiro Takeuchi, Emiko Sakaida, Tohru Iseki, Sonoko Misawa, Koutaro Yokote, Satoru Miyano, Osamu Ohara, Satoshi Kuwabara, Masashi Sanada, Atsushi Iwama, Seishi Ogawa, Chiaki Nakaseko. Distinctive genetic features of plasma cells in POEMS syndrome. **The 58th Annual Meeting of the American Society of Hematology**, San Diego, Dec 3-6, 2016

Chika Kawajiri-Manako, Naoya Mimura, Masaki Fukuyo, Hiroe Namba-Fukuyo, Bahityar Rahmutulla, Yuhei Nagao, Emi Togasaki, Ryoh Shimizu, Nagisa Hasegawa, Shio Sakai, Yusuke Takeda, Chikako Ohwada, Masahiro Takeuchi, Emiko Sakaida, Tohru Iseki, Sonoko Misawa, Koutaro Yokote, Makoto Tsuji, Satoshi Kuwabara, Atsushi Kaneda, Chiaki Nakaseko. Clonal immunoglobulin λ light-chain gene rearrangements detected by next generation sequencing in POEMS Syndrome. **The 58th Annual Meeting of the American Society of Hematology**, San Diego, Dec 3-6, 2016

川尻千華, 三村尚也, 南波宏枝, 福世真樹, 永尾侑平, 東ヶ崎絵美, 清水亮, 竹田勇輔, 酒井紫緒, 大和田千桂子, 武内正博, 堺田恵美子, 井関徹, 三澤園子, 桑原聡, 築地信, 金田篤志, 中世古知昭. Clonal IGL gene rearrangements detected by NGS is correlated with disease status in POEMS syndrome. (Oral session) **第 78 回日本血液学会総会**, 横浜, 2016/10/13-15

堺田恵美子, 川尻千華, 大和田千桂子, 竹田勇輔, 武内正博, 岩澤俊一郎, 三澤園子, 桑原聡, 滝口裕一, 中世古知昭. POEMS 症候群に対する治療戦略 ~ 自家末梢血幹細胞移植の有

用性に関する検討. **第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会**, 神戸, 2016/7/28-30

Chika Kawajiri, Emiko Sakaida, Chikako Ohwada, Yusuke Takeda, Naoya Mimura, Masahiro Takeuchi, Tohru Iseki, Sonoko Misawa, Satoshi Kuwabara, Chiaki Nakaseko. The clinical outcome of relapsed patients with POEMS syndrome after autologous stem cell transplantation. **The 20th Congress of Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation**, Okinawa Japan, 2015/10/30-11/1

中世古知昭, 川尻千華, 大和田千桂子, 宮本敏浩, 東太地, 田口淳, 森毅彦, 長谷川雄一, 近藤忠一, 湯尻俊昭, 吉満誠, 通堂満, 岩崎年宏, 重松明男, 鈴木律朗, 熱田由子, 廣川誠, 坂巻壽, 堺田恵美子. POEMS 症候群に対する自家末梢血幹細胞移植の長期予後 ~ 我が国における多施設共同後方視的解析. **第 40 回日本骨髓腫学会学術集会**, 熊本, 2015/5/16-17

堺田恵美子, 川尻千華, 大和田千桂子, 宮本敏浩, 東太地, 田口淳, 森毅彦, 長谷川雄一, 近藤忠一, 湯尻俊昭, 吉満誠, 通堂満, 岩崎年宏, 重松明男, 鈴木律朗, 熱田由子, 廣川誠, 坂巻壽, 中世古知昭. 我が国における POEMS 症候群に対する造血幹細胞移植の有効性・長期予後の検討 ~ 一元化データを用いた解析. **第 37 回日本造血細胞移植学会総会**, 神戸, 2015/3/5-7

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堺田 恵美子 (Sakaida, Emiko)

千葉大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号: 60422218

(2) 研究分担者

中世古 知昭 (Nakaseko, Chiaki)

千葉大学・大学院医学研究院・特任教授
研究者番号: 30323398

武内 正博 (Takeuchi, Masahiro)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号： 50466702

大和田 千桂子 (Ohwada, Chikako)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号： 80436352

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()