

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年9月3日現在

機関番号：32633

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21376

研究課題名（和文）小児希少症候群に合併する造血器腫瘍発生機序の解明

研究課題名（英文）Research for mechanism of hematological malignancies in rare syndrome in children

研究代表者

平林 真介（HIRABAYASHI, Shinsuke）

聖路加国際大学・聖路加国際病院・常勤嘱託

研究者番号：50769635

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：多数例の検討ができない希少症候群において、造血器腫瘍の発生機序の解明はまだ途上である。本研究はMaffucci症候群、Pearson症候群などきわめて希少な症候群に合併した造血器腫瘍を対象に、網羅的遺伝子解析を行った。症候群の原因となる遺伝子異常に加えて、造血器腫瘍特異的な遺伝子異常が解明された。これらの症候群はがん素因をもち、獲得された遺伝子異常によって腫瘍の表現型が異なると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般集団、希少症候群それぞれの造血器腫瘍の発赤機序を解明することは、それぞれの知見を用いて、相互に新たな解析、治療選択への応用が可能となる。本研究の成果により、Maffucci症候群やPearson症候群において、先天的な原因遺伝子異常を背景に、既知の造血器腫瘍特異的な遺伝子異常が加わることが確認された。今後、がん素因に配慮しつつ、それぞれの腫瘍に合わせた治療選択が可能となる。

研究成果の概要（英文）：Pathogenesis of hematological malignancies in rare syndromes is not clarified yet. In this study, we performed comprehensive genetic analysis of hematological malignancies associated with rare syndromes such as Maffucci syndrome and Pearson syndrome. In addition to the genetic abnormalities responsible for the syndrome, hematologic malignancy-specific genetic abnormalities have been elucidated. These syndromes were predisposed to cancer. The phenotype of the leukemia was different based on the acquired genetic abnormality.

研究分野：小児血液・腫瘍学

キーワード：希少症候群 造血器腫瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

網羅的遺伝子解析により遺伝性疾患のみならず造血管腫瘍の原因遺伝子が次々と判明してきた。その過程でがん細胞における遺伝子異常の蓄積と多段階発がんの機序が解明された。小児領域においてはさらに遺伝性症候群を背景にもつ個体からのがん化の機序が注目されている。実際に造血管腫瘍の WHO 分類、2016 年改訂において生殖細胞系列の素因を有する造血管腫瘍の項が新しく提唱されている。

2. 研究の目的

網羅的遺伝子解析により、がん細胞における遺伝子異常の蓄積と発がんの機序が解明されてきた。小児領域においては遺伝性症候群を背景にもつ個体からのがん化の機序が課題である。しかし、多数例を検討できない希少症候群において、造血管腫瘍の解明はまだ途上である。

確立した研究基盤を用いて Maffucci 症候群、CBL 症候群、GATA2 症候群、Pearson 症候群などの希少症候群に発生した造血管腫瘍の遺伝子解析を行い、希少症候群のがん発症にかかわる付加的な遺伝子異常を体系的に解明し、病態を明らかにするため本研究を企画した。

3. 研究の方法

(1) 対象

聖路加国際病院小児科と研究協力施設の遺伝性症候群による血液腫瘍、家族性血液腫瘍症例のうち、本研究の同意が得られた症例を対象とする。平成 27 年 10 月の時点で聖路加国際大学の研究倫理審査委員会から本研究は承認が得られている。

(2) ターゲットシーケンスと MLPA 法

聖路加国際大学共同研究ラボラトリーにおいて、ABI 3500 Genetic analyzer を用いて希少症候群の原因遺伝子変異・欠失の検索を行い、その同定を試みた。

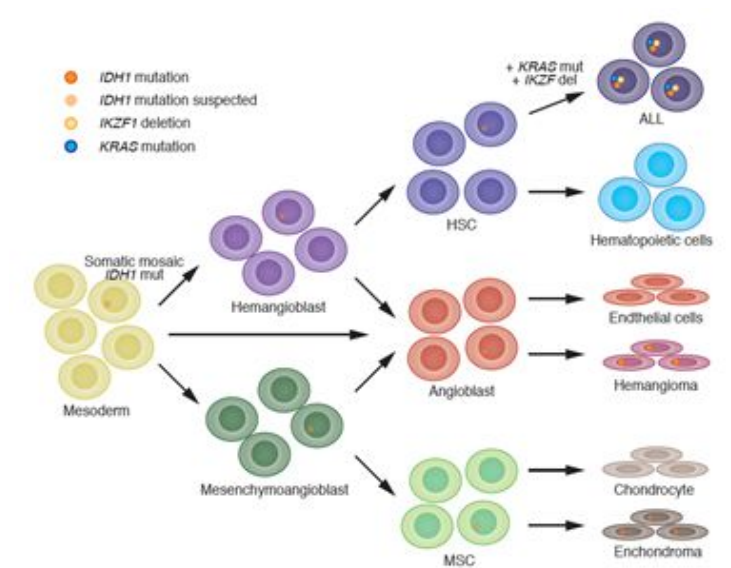
(3) 網羅的遺伝子解析

研究協力施設にて腫瘍検体(somatic)と正常検体(germline)における検索を行い、白血病細胞のクローン変化の解析を行うことで希少症候群におけるがん化の機序を解明する。

4. 研究成果

(1) Maffucci 症候群に合併した急性リンパ性白血病(ALL)の発生機序の解明

Maffucci 症候群は多発性の内軟骨腫を呈する Ollier 病に血管腫を合併した亜型である。2011 年に Ollier 病、Maffucci 症候群の軟骨腫、血管腫に IDH1 / IDH2 変異が同定され、胎生期の体細胞モザイク変異が疾患の原因であることが報告された。IDH1 / IDH2 変異は Gain of function として機能し、異常 IDH が 2 ヒドロキシグルタル酸を増加させ TET の働きを阻害しメチル化が増加する。この機序は Maffucci 症候群の軟骨腫の検体において確かめられる一方、IDH1/ IDH2 の体細胞変異として各種がんと同定されている。造血管腫瘍では、成人の正常核型 AML の 10~30%、小児 AML で 1~3%、小児 ALL で 0.3%に見られる。Maffucci 症候群に合併した ALL 症例のエクソーム解析では、白血病細胞に検出された変異数は 23 個あり、既知の遺伝子変異として、IDH1 p.R132C、KRAS p.G13D が同定された。またコピー数解析で 7q12 領域の欠失が認められ、IKZF1 ホモ欠失が確認された。血管腫細胞では IDH1 p.R132C は確認されたが KRAS 変異はなく、末梢血顆粒球では IDH1、KRAS 変異の両者とも同定されなかった。Maffucci 症候群として体細胞モザイクから派生して白血病細胞と血管腫には同一の IDH1 変異があり、白血病細胞にはさらに KRAS 変異 IKZF1 欠失が加わった。

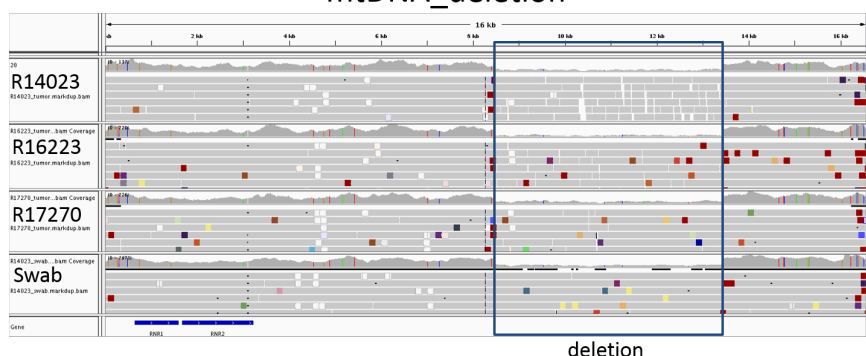


Maffucci 症候群では胎生期の胚細胞の一部に IDH1 変異が加わり、血管内皮細胞に分化した後血管腫、軟骨細胞に分化したのちに内軟骨腫となり、Maffucci 症候群の表現型を呈する。一方、造血幹細胞レベルで KRAS 変異や IKZF1 欠失を伴い ALL を発症する。過去の報告では、Maffucci 症候群で NPM1 変異を獲得した AML の症例や、脳のグリア細胞で TP53 変異が加わり、Glioma が発症した症例の報告があり、Maffucci 症候群はがん素因をもち、個々の組織での付加的異常によって発癌にいたると考えられる。

(2) Pearson 症候群に生じた clonal evolution の発生機序の解明

Pearson 症候群は鉄芽球性貧血、骨髄前駆細胞の空胞形成、脾外分泌不全を伴うミトコンドリア病の一亜型である。貧血は自然軽快することが多く、造血細胞移植を要する例は稀であるが、感染に伴う乳酸アシドーシスの増悪などにより平均寿命は約 4 歳と長期予後は不良である。Pearson 症候群の遺伝子解析では原因となるミトコンドリア DNA の欠失を複数の骨髄検体、口腔粘膜のいずれでも検出することが可能であった。

mtDNA_deletion

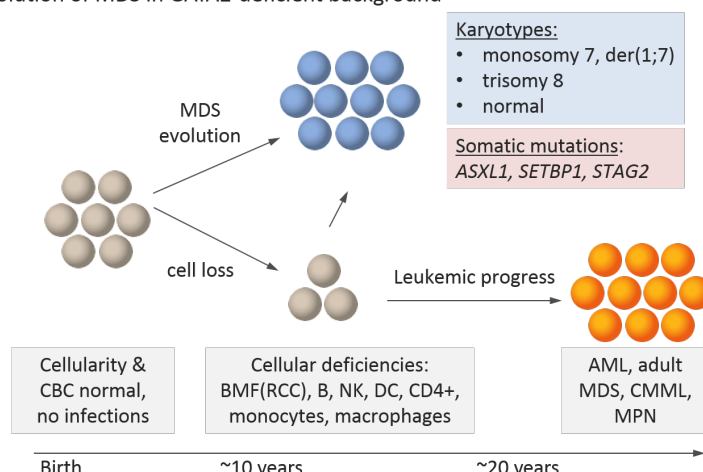


骨髄検体で芽球は 2%のみである一方、FISH 解析では monosomy 7 を 58%で認めていた。網羅的解析では骨髄検体の一部に RUNX1 の体細胞変異が確認されている。Pearson 症候群において clonal evolution が生じた可能性と、造血ストレスによる回避機構としての clonal 造血が生じた可能性等を考え、さらなる解析と論文化を進めている。

(3) GATA2 異常に伴う骨髄異形成症候群の発赤機序の解明

2011 年に家族性 MDS/AML の原因遺伝子として RUNX1, CEBPA に続く 3 番目として GATA2 変異が同定された。同時に、免疫不全症として単球、B 細胞、NK 細胞、樹状細胞の欠損を伴い MDS/AML の発症を特徴とする MonoMAC (monocytopenia and mycobacterial infection) 症候群、DCML (dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid) 欠損症の責任遺伝子としても GATA2 が同定された。さらにリンパ管浮腫や難聴を有し MDS を発症する Emberger 症候群の責任遺伝子としても GATA2 が同定された。Germline GATA2 異常を背景に思春期、若年成人で骨髄異形成症候群を発症する過程を示す。

Evolution of MDS in GATA2-deficient background



自施設内の小児 MDS で同意の得られた症例の解析を試みたが、GATA2 異常を有する MDS は同定できなかった。研究協力施設や血液内科と協力し、さらなる症例集積を諮り、今後の研究進展に努めている。

(4) その他

CBL 症候群、Bloom 症候群などに伴う造血器腫瘍の解析に着手し、結果の取りまとめを進めている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Hirabayashi S, Hasegawa D, Yamamoto K, Nishimura A, Hosoya Y, Shuo T, Kiyokawa N, Miura M, Takahashi N, Manabe A. Dasatinib and low-intensity chemotherapy for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in a child with Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer*. 2019 May;66(5):e27612.

2. Hirabayashi S, Misato S, Manabe A. [TP53 mutations and hematological malignancies]. *Rinsho Ketsueki*. 2018;59(11):2468-2474.

3. Hirabayashi S, Manabe A. Familial hematological malignancies. *Rinsho Ketsueki*. 2017;58(10):1878-1883. *Rinsho Ketsueki*. 2018;59(11):2468-2474.

4. Hirabayashi S, Seki M, Hasegawa D, Kato M, Hyakuna N, Shuo T, Kimura S, Yoshida K, Kataoka K, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Kiyokawa N, Miyano S, Ogawa S, Takita J, Manabe A. Constitutional abnormalities of IDH1 combined with secondary mutations predispose a patient with Maffucci syndrome to acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Dec;64(12).

5. Hirabayashi S, Wlodarski MW, Kozyra E, Niemeyer CM. Heterogeneity of GATA2-related myeloid neoplasms. *Int J Hematol*. 2017 Aug;106(2):175-182.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Hirabayashi S. IDH1 and KRAS mutations are involved in acute lymphoblastic leukemia in Maffucci syndrome. 49th Congress of the International Society of Paediatric Oncology. Oct. 12-15, 2017. Washington, USA.

2. 平林真介, モノソミー7を伴いクローン進化を来した Pearson 症候群, 第 79 回日本血液学会学術集会, 2017 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：真部 淳

ローマ字氏名：MANABE Atsushi

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。