

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K18335

研究課題名（和文）メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の腫瘍消退機序の解明

研究課題名（英文）Elucidating the mechanism of tumor resolution in methotrexate-related lymphoproliferative disease

研究代表者

土橋 映仁 (Dobashi, Akito)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 分子標的病理プロジェクト・研究員

研究者番号：40772249

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患（MTX-LPD）は、MTX投与中の患者に発生し、MTXを中止するのみで寛解することのある疾患である。我々は、化学療法が必要であった症例とMTXの中止だけで寛解が得られた症例の遺伝子網羅的な解析による比較を行い、MTX-LPDの自然消退機序の解明を行った。その結果、化学療法が必要であったMTX-LPDは、一般的なDLBCLと比較すると、同様の遺伝子背景も認められるが、一部に異なった遺伝子の変化があることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法が必要であった症例とMTXの中止だけで寛解が得られた症例の遺伝子網羅的な解析による比較を行い、MTX-LPDの自然消退機序の解明を行った。その結果、化学療法が必要であった症例とMTXの中止だけで寛解が得られた症例の間で異なる遺伝子プロファイルがみられることがわかった。また、化学療法が必要であったMTX-LPDは、一般的なDLBCLと比較すると、同様の遺伝子背景も認められるが、一部に異なった遺伝子の変化があることが判明した。これらの違いを指標として用いることで、診断時にMTX中止のみとするか、化学療法を行うかを見積もることが可能となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Methotrexate-associated lymphoid proliferative disease (MTX-LPD) occurs in patients receiving MTX. This disease may show spontaneous remission after stopping the MTX treatment. Therefore, we conducted a comprehensive genetic analysis of cases requiring chemotherapy and those in remission after stopping MTX treatment. The remission mechanism of MTX-LPD was determined by comparing the chemotherapy cases and remission cases. Our findings showed that, the genetic background of MTX-LPD, which required chemotherapy, was similar to that of general diffuse large B-cell lymphoma. However, the genetic background of the two types of diseases was found to be different.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 関節リウマチとメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患

関節リウマチは、関節の内側の滑膜に炎症が起こり、軟骨・骨が破壊され、日常生活に支障をきたす疾患である。日本では、70 万人以上の患者がおり、30-50 歳代の女性に多い。関節リウマチの予後不良群に対して、メトトレキサート (MTX) は、第一選択薬として用いられており、多くの患者が使用している。

メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患 (MTX-LPD) は、MTX 投与中の患者に発生するリンパ増殖性疾患である。LPD には、リンパ腫、反応性過形成、境界領域病変が含まれ、リンパ腫が臨床上問題となる。2008 年 WHO 分類<sup>1)</sup>では、other iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders の 1 つに分類されている。MTX-LPD の病理組織像では、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) が最も多く、一般的な DLBCL と病理組織像に違いは認められない。MTX を中止するだけで、約 30% の症例が寛解に至り、Epstein-Barr virus (EBV) 感染例で寛解率が高いことが指摘されている。

#### (2) メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患における遺伝子網羅的な解析

これまで、遺伝的な背景は、それぞれのリンパ腫組織型と似ており、差はみられないとされてきた。しかし、いずれも遺伝子網羅的な解析は行われておらず、MTX-LPD の自然消退機序の解明はされていない。そこで、化学療法が必要であった例と MTX の中止だけで寛解が得られた例の遺伝子網羅的な解析による比較を行い、MTX-LPD の自然消退機序の解明を行う研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究では、MTX-LPD において、化学療法を必要とする例と MTX の中止のみで寛解する例の違いを遺伝子網羅的な解析により解明する。また、一般的な DLBCL と MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例の遺伝的背景の違いはあるかについて検討し明らかとする。この違いを指標として用いることで、診断時に MTX 中止のみとするか、化学療法を行うかを見積もることが可能となる可能性がある。さらに、MTX-LPD が消失する機序から、リンパ腫の新たな治療戦略の手がかりを検討する。

### 3. 研究の方法

1994 年から 2020 年までにがん研有明病院にて生検、手術を行い、MTX-LPD、または、その他の医原性免疫不全関連リンパ増殖性疾患と診断された患者 41 例のうち、検体が使用可能であった 30 例において、エクソームシーケンスを行った。また、リンパ腫組織型が DLBCL である検体を中心に、17 例の RNA シーケンス、8 例の全ゲノムバイサルファイトシーケンスを行った。さらに、共同研究機関である亀田総合病院、順天堂大学医学部附属浦安病院より、それぞれ、30 例、8 例の検体の提供をいただき、追加で 38 例のエクソームシーケンスを行った。エクソームシーケンス 68 例の中から、リンパ腫組織型が DLBCL である 31 例のエクソームシーケンスの結果を、化学療法が必要であった 21 例と MTX の中止のみで改善した 10 例で比較を行った。また、リンパ腫組織型が DLBCL である検体と、Chapuy ら<sup>2)</sup>の DLBCL の分類にて、同じ分類に入ると考えられる一般的な DLBCL との変異プロファイルの比較を行った。

### 4. 研究成果

(1) 化学療法が必要であった例と MTX の中止のみで改善した例の比較

リンパ腫組織型が DLBCL である 31 例のエクソームシーケンスの結果を、化学療法が必要であった 21 例と MTX の中止のみで改善した 10 例で比較を行った。

図 1 に差を認めた領域の分布を示した。化学療法が必要であった 21



図 1 : 化学療法が必要であった 21 例と MTX の中止のみで改善した 10 例で差を認めた領域

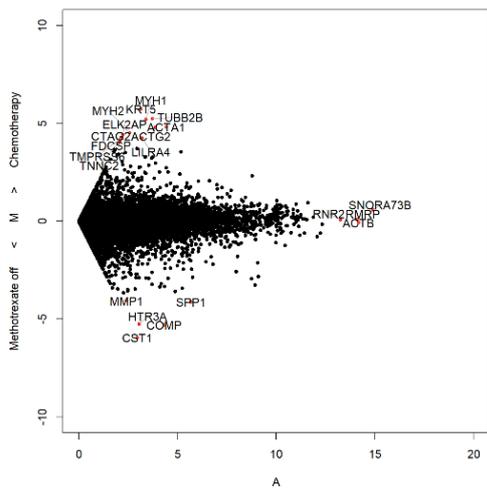


図 2 : 化学療法が必要であった 4 例と MTX の中止のみで改善した 3 例の RNA シーケンスにおける MA プロット

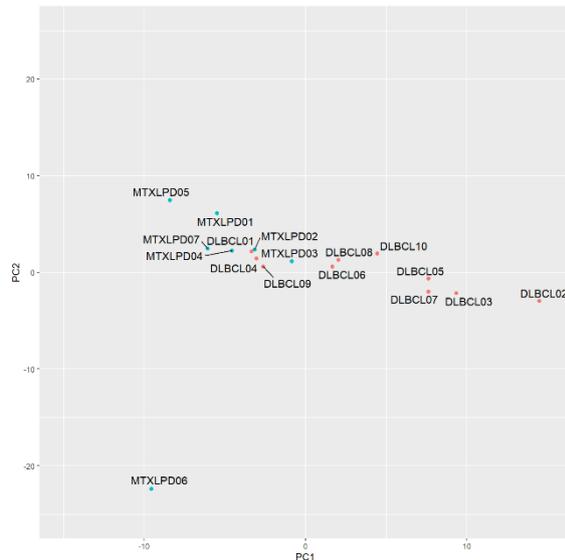


図 3 : 一般的な DLBCL (DLBCL) と MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例 (MTXLPD) の主成分分析

例において、Target 16 領域の欠失、Target 17 領域の増幅を多くの症例で認めた。Target 16 領域の欠失、Target 17 領域の増幅は、Chapuy ら<sup>2)</sup>の DLBCL を分類する変異としても報告されており、一般的な DLBCL においても認められる変異であった。つまり、化学療法が必要であった MTX-LPD は、これまで報告されてきた通り、遺伝的背景がそれぞれのリンパ腫組織型と同様であると考えられた。一方で、MTX の中止のみで改善した例では、Target 01-15 の領域の変化が認められた。

次に、化学療法が必要であった 4 例と MTX の中止のみで改善した 3 例の RNA シーケンスの比較を行った。図 2 に、RNA シーケンスにおける MA プロットを示した。MTX の中止のみで改善した例では、*CST1* 遺伝子の高発現を認めた。

(2) 一般的な DLBCL と MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例の遺伝的背景の比較

MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例において、*CD79B*、*PIMI* などの遺伝子に変異を認める Chapuy ら<sup>2)</sup>の DLBCL の分類における C5 に値する症例と一般的な DLBCL における C5 に値する症例の比較を行った。図 3 にこれらの症例における変異の主成分分析の結果を示した。一般的な DLBCL と MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例は、比較的近いことが明らかとなった。この 2 群間において、差を認めた領域を図 4 に示した。Target 30-32 は、Chapuy ら<sup>2)</sup>の DLBCL を分類する変異として報告のある領域であり、頻度の差がある可能性が示唆された。また、Target 20-29 は、MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例において特異的に認められた変化であった。これらが MTXLPD において、どのような意味があるか引き続き検討を深めていく予定である。

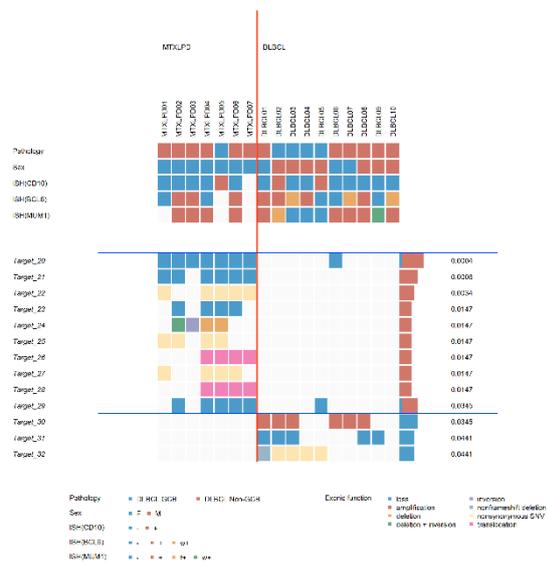


図 4 : 一般的な DLBCL と MTX-LPD において、リンパ腫組織型が DLBCL である例で差をみとめた領域

<引用文献>

1) Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.  
 2) Chapuy B, Stewart C, Shipp MA, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. Nat Med. 2018 May;24(5):679-690.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Dobashi Akito, Togashi Yuki, Tanaka Norio, Yokoyama Masahiro, Tsuyama Naoko, Baba Satoko, Mori Seiichi, Hatake Kiyohiko, Yamaguchi Toshiharu, Noda Tetsuo, Takeuchi Kengo	4. 巻 9
2. 論文標題 <i>TP53</i> and <i>OSBPL10</i> alterations in diffuse large B-cell lymphoma: prognostic markers identified via exome analysis of cases with extreme prognosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 19555-19568
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.24656	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 Togashi Yuki, Dobashi Akito, Sakata Seiji, Sato Yukiko, Baba Satoko, Seto Akira, Mitani Hiroki, Kawabata Kazuyoshi, Takeuchi Kengo	4. 巻 31
2. 論文標題 MYB and MYBL1 in adenoid cystic carcinoma: diversity in the mode of genomic rearrangement and transcripts	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 934-946
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41379-018-0008-8	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 Tsuyama Naoko, Asaka Reimi, Dobashi Akito, Baba Satoko, Mishima Yuko, Ueda Kyoko, Oguchi Masahiko, Tsuji Hideki, Hatake Kiyohiko, Takeuchi Kengo	4. 巻 36
2. 論文標題 Epstein-Barr virus-negative extranodal “true” natural killer-cell lymphoma harbouring a KDM6A mutation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hematological Oncology	6. 最初と最後の頁 328 ~ 335
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/hon.2459	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 Tsuyama Naoko, Sakamoto Kana, Sakata Seiji, Dobashi Akito, Takeuchi Kengo	4. 巻 57
2. 論文標題 Anaplastic large cell lymphoma: pathology, genetics, and clinical aspects	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Clinical and Experimental Hematopathology	6. 最初と最後の頁 120 ~ 142
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3960/jslirt.17023	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 土橋映仁
2. 発表標題 Sequence Read Archiveデータの再解析による新たな遺伝子異常の検出
3. 学会等名 NGS現場の会 第五回研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 土橋映仁、富樫由紀、横山雅大、津山直子、馬場郷子、坂田征士、森誠一、畠清彦、山口俊晴、野田哲生、竹内賢吾
2. 発表標題 「17p欠損を伴うTP53変異」および「OSBPL10変異」はdiffuse large B-cell lymphomaの独立した予後因子である
3. 学会等名 第57回日本リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫の予後予測因子、及び予後予測方法	発明者 土橋 映仁, 竹内 賢吾	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、W0/2018/212071	取得年 2018年	国内・外国の別 外国

〔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
---------------------------	-----------------------	----