

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03614

研究課題名(和文) 小児急性リンパ性白血病発症にかかわる遺伝学的背景の検討

研究課題名(英文) Genetic background of acute lymphoblastic leukemia in children

研究代表者

高木 正稔 (Takagi, Masatoshi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：10406267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：小児急性リンパ性白血病(ALL)の遺伝的な背景を探索するため、B細胞分化に関わる遺伝子の解析を行い、PAX5 6個、TCF3 8個のレアバリエーションを同定した。PAX5のバリエーションを持つ患者の1人は分類不能型免疫不全症であり、このバリエーションのノックインマウスはB細胞分化異常、白血病発症易感受性を示した。TCF3のバリエーションは、いずれも転写機能は正常だった。米国と連携し、4,405のALL検体を解析し、106のバリエーションを同定し、うち8個がナンセンス変異であった。家族性にALLを発症した家系から、PAX5レアバリエーションを同定した。3家系を集積し、臨床的特徴、免疫異常、遺伝学的特性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児急性リンパ性白血病(ALL)の遺伝的な背景を明らかにすることにより、小児ALLの発症に関わる病態解明につながることを予測される。今回の研究により小児ALLの一部はB細胞分化にかかわる転写因子の異常を背景としていることが明らかになり、将来的にはこういった分子を標的とした治療法開発につなげていく必要があると考える。また小児ALLの一部が遺伝的な背景のもとに発症しているということは遺伝カウンセリングの適切な介入が必要なことを意味し、将来的な患者ケアに役立つ情報となると考える。

研究成果の概要(英文)：To explore the genetic background of childhood acute lymphocytic leukemia (ALL), we analyzed genes involved in B-cell differentiation and identified 6 PAX5 and 8 TCF3 rare variants.

One patient with a variant of PAX5 was common variable immunodeficiency. Knock-in mice with this variant showed abnormal B cell differentiation and susceptibility to leukemogenesis. TCF3 variants retained normal transcriptional function. Therefore, in collaboration with a U.S. group, we analyzed 4,405 ALL samples and identified 106 variants, 8 of which were nonsense mutations. We identified the PAX5 rare variant in familial cases of ALL. We identified additional 2 families and their clinical features, immune abnormalities, and genetics were characterized.

研究分野：小児血液腫瘍学

キーワード：白血病 小児 遺伝的背景 B細胞分化

1. 研究開始当初の背景

小児がんは本邦において、年間約 2,000 例程度発症する希少がんであるが、将来性のある小児に発症する悪性腫瘍であり、社会的インパクトは非常に高い。なかでも小児 ALL は本邦で年間 600 人程度発症する。化学療法の進歩により、予後良好群では 90%以上の生存が期待される。一方で生後 12 か月未満に発症し、全小児 ALL の 2~5%を占める乳児急性リンパ性白血病(乳児 ALL)の予後は、造血細胞移植を含めた化学療法の強化によっても、50%に満たないのが現状である。乳児期に発生するというその病態から、遺伝的な要因の関与が強く疑われているが、その実態は明らかにされていない。これまで多くの家族性腫瘍の責任遺伝子が明らかにされているが、小児科領域を中心とした家族性腫瘍は頻度も低く、認知度も低いため、体系的な解析は少ない。

2015 年に St. Jude Children's Research Hospital を中心としたグループにより、約 1,000 人の小児がん患者の生殖細胞レベルのゲノム解析が行われ、既知の家族性腫瘍にかかわる遺伝子の異常が小児がん全体で 8.5%、また白血病では 4.4%に同定された。TP53 変異の頻度が一番高く、APC、BRCA2 と続いていた。その一方で生殖細胞レベルの遺伝子異常が見つかった小児がん患者の中で腫瘍の家族歴を有するものは 40%に過ぎなかった (N Engl J Med. 2015;373:2336-46)。またこの研究とは別に、これまでに IKZF1、PAX5 や ETV6 などのいくつかの家族性 ALL の責任遺伝子が同定されている。ALL 発症の遺伝的素因についても研究が行われ、ゲノムワイド関連解析(GWAS)を用いて小児 ALL では IKZF1、ARID5B、CEBPE など幾つかの疾患感受性領域が同定されている (Nature Genet. 2009;41:1001-5)。

2. 研究の目的

本研究では、比較的まれな遺伝的背景に基づいて発症する小児 ALL の頻度、表現型を明らかにするとともに、その新規責任遺伝子を明らかにし、PID の視点から免疫状態を評価する。これら研究成果に基づき、将来的に適切な支持療法への応用、遺伝カウンセリングの導入、検査体制の確立、サーベイランス、腫瘍の早期診断、予後の改善に貢献することを本研究の目的とする。具体的な短期目標として①本邦における遺伝的背景に基づいて発症する ALL の実態の把握、②新規 ALL 疾患感受性遺伝子の同定、③PID 関連遺伝子の異常によって発症する ALL 患者の免疫能の評価、④乳児 ALL 発症にかかわる疾患感受性遺伝子の同定、を挙げる。これまで本邦における小児 ALL の大規模な遺伝学的解析を行ったのは申請者らのグループが最初であり、これら経験をもとに展開できる研究のリソース、技術は本邦において高い独自性を有する。また PID の観点からの小児白血病研究は、世界的にもユニークなアプローチであることから、当該分野に新たな視点を提供することが可能と考える。また乳児白血病に関しても、その遺伝的背景に注目した研究は全く行われていない。

3. 研究の方法

(1) 小児急性リンパ性白血病にかかわる新規の疾患感受性遺伝子の同定

B 細胞分化にかかわる代表的な転写因子として TCF3、IKZF1、PAX5 などが知られている。これらのうちのいくつかはすでに ALL もしくは PID と関連していることが報告されている。小児 ALL

患者 582 例由来の正常体細胞 DNA を用いて、これまで TCF3、IKZF1、PAX5 及び GWAS によって明らかにした疾患感受性遺伝子候補 *ARID5B* についてターゲットシーケンスを行う。また同定されるバリエントアレルをサブクローニングし、転写活性を検討することで、そのバリエントの機能的障害を確認する。

(2) 家族性に発症する ALL の家系を集積し、エクソーム解析などにより、その疾患遺伝子を明らかにするとともに、その患者の免疫学区的特性を検討する。

(3) PID と診断されているもののうち ALL を発症したケースを抽出し、その白血病発症機構の原因に、腫瘍細胞の体細胞変異を明らかにすることにより迫る。

(4) 小児 ALL に関しては我々の報告も含め複数の GWAS の研究成果があるが、乳児 ALL に関しては世界的に全く報告がない。症例数は限られるが、その発症に強い遺伝的素因が考えられるため、少数例の GWAS 解析でも候補領域が同定できると考える。GWAS を行い、疾患感受性遺伝子の同定を試みる。

4. 研究成果

(1) ディスカバリーコホートとして小児 ALL を発症した患者由来正常体細胞 DNA 582 例を用いて、これまで家族性 ALL の疾患感受性遺伝子として報告のある IKZF1、PAX5、また B 細胞分化にかかわる代表的な転写因子として TCF3 及び GWAS によって明らかにした疾患感受性遺伝子候補 *ARID5B* のについてターゲットシーケンスを行った。その結果 IKZF1 0 個、PAX5 6 個、*ARID5B* 7 個、TCF3 8 個のレアバリエントが同定された。6 個の PAX5 のバリエントの内 2 つにおいて転写因子活性の低下を持つバリエントが同定された。このうちの一つの PAX5 のバリエントについて、その臨床像を検討したところ、無ガンマグロブリン血症を合併した、分類不能型免疫不全症 (CVID) であることが明らかとなった。そこで、このバリエントのノックインマウスを作成したところ、B 細胞分化異常、白血病発症易感受性を示した。

TCF3 に同定されたバリエントはいずれも転写機能は正常だった。TCF3 に関しては米国のグループと連携し、4,405 の ALL の検体を解析し 106 例のバリエントを同定し、そのうち 8 個がナンセンス変異であった。また HLH ドメインに位置する 3 つのバリエントの転写活性を検討したところ、そのうちの 2 つで転写因子活性の低下があることが明らかとなった。

(2) PAX5 異常による家族性 ALL は世界的にも数家系のみで報告されている。本邦でも、これまでに申請者らが 1 家系のみを同定している。その 1 家系についてその免疫機能を検討したところ IgM メモリー細胞の減少の減少をみとめた。これらの発見が PAX5 異常症に共通した現象かどうか、欧米と協力しさらに 2 家系を集積し、解析を行い、PAX5 異常症に共通した現象であることを確認した。また PAX5 異常による家族性 ALL は常染色体顕性 (優性) 遺伝ながら不完全浸透を示した。この不完全浸透の原因をエクソーム解析を用いて検討したが、その要因を明らかにすることはできなかった。

(3) ALL を合併した BTK 異常による無ガンマグロブリン血症 3 症例の解析を行った。BTK の胚細胞変異の上に *KMT2D*、*CDKN2A*、*ERG* 増幅、*TP53*、*KMT2C*、*monosomy7*、*NSD1*、*FOXM1* などの遺伝子異常が加わることにより、白血病が発症することが明らかとなった。

(4) 乳児白血病にかかわる新規の疾患感受性遺伝子の同定

乳児白血病 128 検体、コントロール 7549 検体を用いて、GWAS 解析を行った。その結果、疾患感受性候補領域 (OR 11.91 P= 1.685E-47) を同定した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoshino Hiroshi, Nishiyama Yohei, Kamma Hiroshi, Chiba Tomohiro, Fujiwara Masachika, Karaho Takehiro, Kogashiwa Yasunao, Morio Tomohiro, Yan Kunimasa, Bessho Fumio, Takagi Masatoshi	4. 巻 112
2. 論文標題 Functional characterization of a germline ETV6 variant associated with inherited thrombocytopenia, acute lymphoblastic leukemia, and salivary gland carcinoma in childhood	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 217 ~ 222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-020-02885-y	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 Yoshida, M. Tanase-Nakao, K. Shima, H. Shirai, R. Yoshida, K. Osumi, T. Deguchi, T. Mori, M. Arakawa, Y. Takagi, M. Miyamura, T. Sakaguchi, K. Toyoda, H. Ishida, H. Sakata, N. Imamura, T. Kawahara, Y. Morimoto, A. Koike, T. Yagasaki, H. Ito, S. Tomizawa, D. Kiyokawa, N. Narumi, S. Kato, M.	4. 巻 191
2. 論文標題 Prevalence of germline GATA2 and SAMD9/9L variants in paediatric haematological disorders with monosomy 7	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 835 ~ 843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.17006	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 西村聡, 成戸卓也, 星野顕宏, 天野敬史郎, 岩本彰太郎, 平山雅治, Andrew Grigg, Julian J. Bosco, 右田昌宏, 高木正稔, 小原収, 森尾友宏, Menno C. van Zelm, 金兼弘和
2. 発表標題 X連鎖無ガンマグロブリン血症における白血病発症因子のゲノム解析
3. 学会等名 第3回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木正稔
2. 発表標題 生殖細胞系列遺伝子異常により発症する血液腫瘍
3. 学会等名 第24回栃木県血液疾患講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yohei Nishiyama, Etsushi Toyofuku, Tsubasa Okano, Motoi Yamashita, Takahiro Kamiya, Akifumi Endo, Hirokazu Kanegane, Masatoshi Takagi, Kohsuke Imai, Tomohiro Morio
2. 発表標題 小児期にホジキンリンパ種を発症し、成人後に免疫グロブリン低下を指摘されALPS-FASと診断された一例
3. 学会等名 第62回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshida, M. Nakabayashi, K. Sato-Otsubo, A. Tsujimoto, S. Yoshida, K. Shirai, R. Osumi, T. Yuza, Y. Takagi, M. Takahashi, H. Koh, K. Kinoshita, A. Hino, M. Imamura, T. Nakazawa, Y. Okuya, M. Kakuda, H. Sanada, M. Matsumoto, K. Tomizawa, D. Kiyokawa, N. Ohara, A. Manabe, A. Hata, K. Yang, J, J. Kato, M.
2. 発表標題 NUDT15 Variants Confer High Incidence of Secondary Malignancies of ALL in Children
3. 学会等名 61st American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyamoto, S. Naruto, T. Morio, T. Urayama, KY Manabe, A. Takagi, M.
2. 発表標題 Association of Germline Variants of TCF3 and PAX5 with Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Development
3. 学会等名 61st American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishimura A, Naruto T, Hoshino A, Amano K, Iwamoto S, Hirayama M, Grigg A, Bosco J J, Migita M, Takagi M, Ohara O, Morio T, van Zelm MC, Kanegane H
2. 発表標題 Genomics Analysis of Leukemia Predisposition in X-Linked Agammaglobulinemia
3. 学会等名 19th Biennial Meeting of the European Society of Immunodeficiencies (ESID2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田仁典, 中尾佳奈子, 鳥彦仁, 白井了太, 吉田馨, 辻本信一, 大隅朋生, 出口隆生4, 森麻希子5, 荒川ゆうき, 高木正稔, 宮村能子, 坂口公祥, 豊田秀実, 石田悠志, 坂田尚己, 今村俊彦, 川原勇太, 小池隆志, 富澤大輔, 清河信敬, 鳴海覚志, 加藤元博
2. 発表標題 小児のモノソミー7を伴う血液疾患における生殖細胞系列のSAMD9/9Lパリアント保有率
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高木正稔
2. 発表標題 遺伝性素因と白血病
3. 学会等名 第12回研修医(初期・後期)のための血液学セミナー(招待講演)
4. 発表年 2019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	盛武 浩 (Moritake Hiroshi) (40336300)	宮崎大学・医学部・教授 (17601)	
研究分担者	浦山 ケビン (Urayama Kevin) (60726850)	聖路加国際大学・専門職大学院公衆衛生学研究科(公衆衛生大学院)・教授 (32633)	
研究分担者	重水 大智 (Shigemizu Daichi) (70617464)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・メディカルゲノムセンター・副部長 (83903)	

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