

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17845

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消退機序を関節リウマチ関連遺伝子から紐解く

研究課題名（英文）Unraveling the regression mechanisms of methotrexate-associated lymphoproliferative disorders through rheumatoid arthritis-related genes

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） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：医原性免疫不全関連リンパ増殖性疾患（IIALPD）の組織学的所見は、反応性リンパ節炎からリンパ腫まで様々である。約60%の症例で免疫抑制剤の減量・中止により自然退縮する。本研究では、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）の組織型であった54症例を対象に、自然退縮例と化学療法必要例を比較し、包括的な遺伝子解析を行った。解析の結果、DLBCLに特徴的な遺伝子変化が認められ、自然退縮例ではSGK1、TET2のバリエーションがみられ、主要な体細胞バリエーションはみられなかった。このことから、IIALPDにおいて、診断時のマルチ遺伝子パネル検査が、早期の治療介入や関連薬剤の中止の決定に重要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、医原性免疫不全関連リンパ増殖性疾患（IIALPD）において、自然退縮例と化学療法必要例の遺伝子変化の違いを明らかにした。化学療法必要例では、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）に特徴的な遺伝子変化が認められ、自然退縮例では主要な体細胞バリエーションが欠如していた。この発見は、IIALPDの診断時にマルチ遺伝子パネル検査を行うことで、早期の治療介入や関連薬剤の中止の判断に役立つことを示唆している。

研究成果の概要（英文）：Iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders (IIALPDs) exhibit diverse histological findings, ranging from reactive lymphadenitis to lymphoma. Approximately 60% of cases show spontaneous regression following the reduction or discontinuation of immunosuppressive agents. This study conducted a comprehensive genetic analysis of 54 cases with the histology type of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), comparing those with spontaneous regression to those requiring chemotherapy. The analysis revealed characteristic genetic alterations in DLBCL, with SGK1 and TET2 variants observed in spontaneous regression cases, while major somatic variants were absent. These findings suggest that multi-gene panel testing at diagnosis is crucial for determining early therapeutic intervention or the cessation of implicated medications in the management of IIALPDs.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 マルチ遺伝子パネル検査 医原性免疫不全関連リンパ増殖性疾患 メトトレキサート 自然退縮

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患 (MTX-LPD) は、関節リウマチの治療薬であるメトトレキサート (MTX) を投与中の患者に発生するリンパ増殖性疾患であり、2016年のWHO分類では、医原性または免疫不全関連リンパ増殖性疾患に分類されている。MTX-LPDの病理組織像は様々であり、反応性リンパ節炎から明らかなリンパ腫まで幅広く、最も頻度が高いものは、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) の組織型である (Swerdlow SH, CE, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO Classification of Tumours, Revised 4th Edition, Volume 2. 2017.)。

MTX-LPDの30-50%の症例で Epstein-Barr ウイルス (EBV) 陽性が観察され、病因における潜在的な役割が示唆されている。MTX-LPDの臨床経過は多様であり、MTX中止後に自然寛解する症例もあれば、進行性のリンパ腫に至る症例もある。予後因子には、組織型、病期、EBV感染状態、MTX中止後の反応性などがあり、EBV陽性例は一般的に予後が良好とされている (Berti A, Felicetti M, Peccatori S, et al. Joint Bone Spine. 2018;85(1):35-40.)。

MTX-LPDの分子病態については、網羅的に解析されておらず、十分に解明されていない。MYD88やCD79Bなどの遺伝子の変異が一部の症例で同定されているが、特定の遺伝子変化の予後に与える影響は明らかになっていない。

近年の研究では、TNFRSF14やTNFAIP3などの関節リウマチのリスク遺伝子がMTX-LPDの病因に関与していることが示唆されている (Kaji D, Kusakabe M, Sakata-Yanagimoto M, et al. Br J Haematol. 2021;195(4):585-594.)。これらの遺伝子は免疫応答の調節に関与しており、B細胞リンパ腫において、がん抑制遺伝子として機能することが示されている。しかし、MTX-LPDにおけるこれらの遺伝子変異の比率と臨床的意義については、さらなる解明が必要である。

本研究では、次世代シーケンサーを用いてMTX-LPDの遺伝子変異の全体像を網羅的に解析し、自然寛解する症例と化学療法を必要とする症例の遺伝学的な差異に着目することにより、疾患の多様な臨床転帰に寄与する可能性のある因子を探索する。さらに、患者の層別化や治療方針の決定に役立つ遺伝学的バイオマーカーを同定する。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、MTX-LPDの遺伝学的基盤を明らかにし、その分子病態の理解を深めることである。次世代シーケンサーの技術を用いて、MTX-LPDの遺伝子変異の全体像を網羅的に解析し、特にMTX中止のみで自然寛解する症例と化学療法を必要とする症例の遺伝学的な差異に着目する。組織型がDLBCLであるMTX-LPD 54例を対象に、エクソームシーケンスおよびRNAシーケンスを行い、コピー数変化や体細胞バリエーションなどの遺伝子の変化を同定することで、臨床経過に関与する可能性のある因子を探索する。

また、関節リウマチからMTX-LPDが発症する症例の生殖細胞バリエーションを解析し、一般的なDLBCLとの比較を行うことで、MTX中止のみでMTX-LPDが消失する機序の解明を目指す。さらに、患者の層別化や治療方針の決定に役立つ遺伝学的バイオマーカーを同定し、MTX-LPDの臨床的な管理方法を改善することを目的とする。

本研究により、MTX-LPDの分子病態の理解が深まり、関節リウマチ患者におけるMTX-LPDのリスク評価や早期診断、適切な治療選択につながることを期待される。また、MTX中止のみで自然寛解する機序の解明は、不必要な化学療法を避けるための新たな治療戦略の開発につながる可能性がある。

以上のように、本研究はMTX-LPDの遺伝的基盤と分子病態の解明を通じて、この疾患の診断、リスク層別化、治療選択の改善を目指す。

## 3. 研究の方法

本研究では、MTX-LPDの遺伝学的基盤と分子病態を明らかにするために、以下の方法を用いる。まず、組織型がDLBCLであるMTX-LPD 54例を対象とし、臨床情報を収集する。そして、対象症例をMTX中止のみで自然寛解した症例と化学療法を必要とした症例に分類し、組織型がDLBCLであるMTX-LPD 54例について、腫瘍組織および正常組織があるものについては、正常組織についてもgenomic DNAを抽出する。genomic DNAを用いて、エクソームシーケンスを行い、体細胞バリエーションを同定する。さらに、コピー数変化の解析を行い、多くの症例で認められる遺伝子の変化を同定する。RNAシーケンスによる遺伝子発現プロファイルの解析では、腫瘍組織からtotal RNAを抽出し、自然寛解例と化学療法必要例の間で発現プロファイルを比較し、予後関連因子を探索する。

得られたシーケンスデータについては、クオリティチェックの上、バリエーション同定、コピー数解析、発現量定量などの情報学的解析を行い、臨床情報と統合し、予後関連因子、リスク因子、治療標的などを同定する。自然寛解例と化学療法必要例の比較においては、適切な

統計学的手法を用いて解析を行い、多変量解析により、独立した予後因子やリスク因子を同定する。さらに、同定された予後関連因子やリスク因子について、免疫組織化学染色などにより検証する。

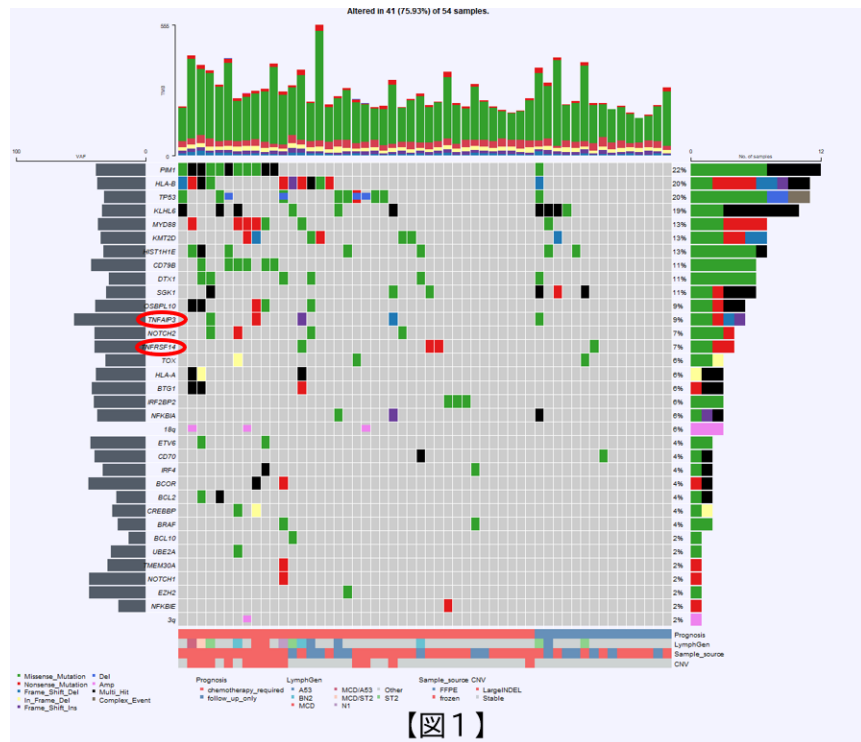
これらの方法を通じて、MTX-LPD の遺伝学的基盤と分子病態の全体像を明らかにし、臨床的に有用なバイオマーカーや治療標的の同定を目指す。得られた知見は、MTX-LPD の診断、リスク評価、予後予測、治療選択の改善に役立てられると期待される。

#### 4. 研究成果

本研究では、がん研有明病院および共同研究機関で診断された MTX-LPD 患者 68 例を対象に、エクソームシーケンス、RNA シーケンス、全ゲノムバイサルファイトシーケンスによる網羅的な遺伝学的解析を行い、以下の成果を得た。

化学療法が必要であった群では、DLBCL を細分類する特徴的な遺伝子にバリエーションが認められた【図 1】。具体的には、*TP53* バリエーションの特徴をもつ A53、MYD88 L265P と *CD79B* バリエーションを併せ持つ特徴のある MCD、*NOTCH1* バリエーションの特徴を有する N1、*BCL6* 融合遺伝子と *NOTCH2* バリエーションを持つ特徴のある BN2 といった遺伝学的特徴を有する症例が、化学療法を必要とする傾向があった。これらのバリエーションは、MTX-LPD の予後を規定する重要な因子である可能性が高いと考えられた。

化学療法が必要な群では、関節リウマチになりやすい遺伝子である *TNFAIP3* や

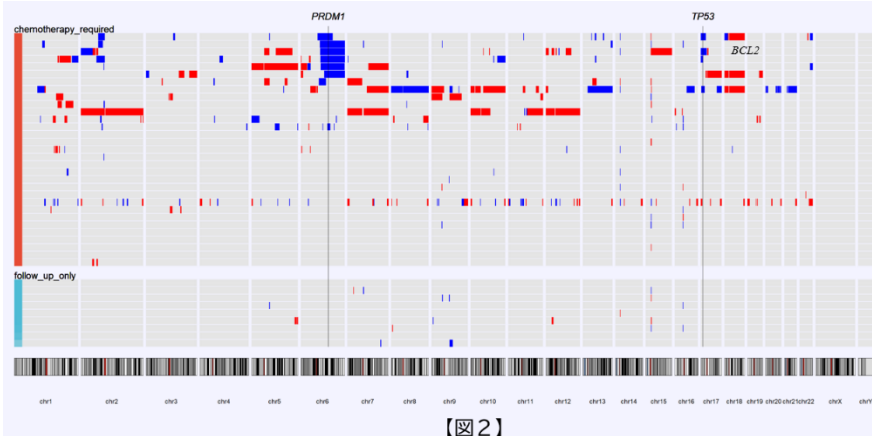


【図 1】

*TNFRSF14* などの遺伝子にもバリエーションが認められた。これらのバリエーションは、MTX-LPD の発症リスクを高める因子である可能性がある。関節リウマチ患者では、MTX の長期投与により MTX-LPD の発症リスクが上昇することが知られているが、その分子メカニズムは十分に解明されていない。本研究で同定された関節リウマチ関連遺伝子のバリエーションは、MTX-LPD の発症メカニズムを理解する上で重要な手がかりとなると考えられる。また、これらのバリエーションを有する関節リウマチ患者では、MTX-LPD の発症、特に、化学療法を必要とするリンパ腫を発症する可能性があり、注意深い経過観察が必要であると考えられる。

コピー数変化 (CNV) 解析の結果【図 2】、*PRDM1* を含む領域の CNV 欠失が、化学療法が必要であることと関連していた。*PRDM1* は、B 細胞の分化や増殖に重要な転写因子であり、その機能喪失はリンパ腫の発症に関与することが知られている。本研究の結果は、

*PRDM1* の機能喪失が MTX-LPD の予後不良に関与している可能性を示唆するものであり、*PRDM1* を標的とした新たな治療戦略の開発につながることを期待される。また、*PRDM1* の CNV 欠失は、MTX-LPD



【図 2】

の診断時に評価すべき重要なバイオマーカーになる可能性がある。

*SGK1* バリエントと *TET2* バリエントを有する ST2 症例については、予後に影響しない可能性が示唆された。*SGK1* と *TET2* は、いずれもエピゲノム制御に関与する重要な分子であり、そのバリエントはさまざまな腫瘍で報告されている。しかし、本研究の結果は、これらの変異が MTX-LPD の予後に与える影響は限定的であることを示唆している。

以上の成果は、MTX-LPD の病態解明と治療方針の決定に重要な示唆を与えるものであり、特に化学療法が必要となる症例を予測するバイオマーカーの開発につながると期待される。同定された遺伝学的特徴の臨床的有用性を確立し、それらの機能的意義を解明することで、MTX-LPD の分子病態の理解がさらに深まり、新たな治療戦略の開発につながることが期待される。本研究は、MTX-LPD の克服に向けた重要な一歩であり、今後のさらなる展開が期待される。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 土橋 映仁	4. 巻 65
2. 論文標題 頭頸部がんと遺伝診療	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科展望	6. 最初と最後の頁 263 ~ 267
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11453/orl.tokyo.65.6_263	査読の有無 無
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 土橋 映仁	4. 巻 29
2. 論文標題 【がんと慢性炎症】慢性炎症とMALTリンパ腫	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 別冊 B10 Clinica	6. 最初と最後の頁 42 ~ 46
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計1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，新川裕美，高津美月，幅野愛理，箕浦祐子，金子景香，富樫由紀，大迫智，山崎文登，倉橋浩樹，服部浩佳，竹内賢吾，植木有紗
2. 発表標題 Li-Fraumeni症候群(LFS)モザイク患者における空間的多数検体でのTP53シングルサイト解析
3. 学会等名 日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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