

## 主論文の要旨

Molecular Characterization of Chronic-type Adult T-cell Leukemia/Lymphoma

慢性型成人T細胞白血病／リンパ腫の分子学的特徴

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻

高次医用科学講座 臓器病態診断学分野

(指導： 中村 栄男 教授)

吉田 稚明

## 【諸言】

成人 T 細胞白血病 (ATL) は human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) 感染者に発症する T 細胞性腫瘍である。ATL は特徴的な臨床所見から 4 つの病型 (急性型、リンパ腫型、慢性型、くすぶり型) に分類される。このうち慢性型 ATL は、急性型・リンパ腫型 ATL と比較し予後良好とされてきたが、最近の研究で慢性型 ATL の半数が急性転化し死亡していることが判明した。しかし、その急性転化機構に関与するメカニズムについては不明であった。そこで、私たちは急性型、慢性型 ATL のゲノム異常をそれぞれ評価し、両者の比較をすることにより急性転化機構の解明を行った。

## 【対象および方法】

27 例の慢性型、35 例の急性型 ATL を対象とした。ATL は CD4 陽性であるため、DNA, RNA は末梢血中の CD4 陽性腫瘍細胞から抽出した。これら検体に対し、Oligo-array comparative genomic hybridization (aCGH) 法と gene expression profiling 法でゲノム異常ならびに遺伝子発現解析を実施した。イベントを急性転化ないし ATL に対する治療とし、慢性型 ATL の累積急性転化率を算出した。

## 【結果と考察】

### ゲノム異常解析

慢性型と急性型 ATL のゲノム異常様式を図 1 に示す。両病型のゲノム異常様式を比較すると、慢性型で高頻度に認めたゲノム異常は急性型でも認められた。また、慢性型と比較し急性型でのみ高頻度に認めるゲノム異常部位を認めた。臨床的に約半数の慢性型 ATL が急性転化することから、慢性型は急性型 ATL の前病変と考えられる。このため急性型で高頻度に認めるゲノム異常は急性転化に関与していると考え、それら異常に着目し更に解析を実施した。

### CDKN2A の欠失：細胞周期の脱制御

9p21.3 欠失は急性型で最も高頻度に認める異常であり、慢性型と比べて急性型で特に特徴的な異常であった (慢性型 19% (n = 27)、急性型 46% (n = 35),  $P < 0.05$ ; 図 1)。9p21.3 欠失を示す急性型 ATL 17 例のうち 10 例で同部の homozygous loss を認めたのに対し、慢性型 ATL では homozygous loss は認められなかった。同部を欠失する検体はすべて *CDKN2A* と *CDKN2B* という 2 つの遺伝子を含んでいた。これら遺伝子のうち、*CDKN2A* の遺伝子発現レベルのみが、ゲノム欠失と相関し低下しており、重要な候補遺伝子と考えた (図 2A)。*CDKN2A* は *INK4a* と *ARF* という 2 つの transcriptional variants を code している。*CDKN2A* を欠失する ATL 細胞株に両 variants をそれぞれ導入したところ細胞増殖抑制を認めた (図 2B)。これらのことは、*CDKN2A* の欠失が急性型 ATL の病態、また急性転化にとって重要である可能性を示唆する。

*CDKN2A* は細胞周期の抑制因子であり、その欠失は細胞周期の脱制御をもたらす。*CDKN2A* の欠失を慢性型と比べて急性型で高頻度に認めることから、細胞周期 pathway の異常が急性転化に関与している可能性がある。このことから、*CDKN2A* を含む細胞周期関連遺伝子の異常について慢性型検体、急性型検体でまとめると、これら異常は有意に急性型で多く認められた（慢性型 56% (n = 27)、急性型 80% (n=35),  $P < 0.05$  ; 図 2C)。このことは、*CDKN2A* 欠失を含む細胞周期の脱制御が急性転化機構に関与していることを示唆する。

### ***CD58* の異常：免疫逃避機構**

また、私たちは 1p13 欠失も急性型で特徴的なゲノム異常として抽出した（図 1）。同部の異常内には *CD58* が常に含まれており（図 3A）、1p13 の重要な候補遺伝子と考えた。同遺伝子の変異検索を実施すると、急性型の 1 例でナンセンス変異を認め、同遺伝子の異常は有意に急性型が多かった（慢性型 7% (n = 27)、急性型 29% (n = 35),  $P < 0.05$ , 図 3B)。また *CD58* の homozygous loss は急性型のみで認めた。

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) に関する研究で、*CD58* および  *$\beta$ 2-microglobulin* (*B2M*) の異常が腫瘍細胞の免疫逃避機構に関与すると報告されている。このため *B2M* 異常の検索を実施したが、同遺伝子の異常は ATL では頻発していなかった。*CD58* のゲノム欠失を有する ATL 細胞株では、細胞表面上の *CD58* の発現が低下していた（図 3C）。*CD58* 異常が急性型に特徴的であることから、DLBCL と同様な免疫逃避機構が本疾患の急性転化に関与していると考えられる。実際、HTLV-1 キャリアに対しての免疫抑制剤の長期投与は aggressive ATL 発症のリスクとされている。このことは、免疫逃避機構が ATL の病態において重要な役割を果たしていることを示唆するものである。今後 ATL に対する免疫療法を開発する際にはこの免疫逃避機構の存在を考慮すべきである。

### **慢性型 ATL 患者での急性転化予測マーカー**

上記で見出したゲノム異常と累積急性転化率の関連について、慢性型 ATL 検体内で検討を行った。すると *CD58* 異常を有する慢性型 ATL 症例は有意に急性転化していた。また細胞周期関連遺伝子の異常を有する慢性型 ATL 症例も急性転化している傾向を認めた。これらの異常を組み合わせると、よりの確に慢性型検体内で急性転化する群を抽出することができた（図 4）。これは今後より多数の検体で評価する必要がある。

### **【結論】**

慢性型 ATL および急性型 ATL に対しゲノム異常解析を実施し、両者を比較した。これにより、細胞周期の脱制御および免疫逃避機構が慢性型 ATL の急性転化機構に関与している可能性を見出した。これら機構の異常は慢性型 ATL 患者における急性転化予測マーカーとして有用である可能性がある。両病型で共通していたゲ

ノム異常部位には ATL 発症にとって重要な異常である可能性があり、今後解析する必要がある。