

73. がん治療後に発症する二次性白血病の分子病態の解明

清井 仁

名古屋大学 大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

Key words : 二次性白血病, 遺伝子異常, 治療関連腫瘍

緒 言

新規抗がん剤、分子標的薬、自己末梢血幹細胞移植を併用した大量化学療法への導入や放射線療法の進歩などにより、がん患者の予後は改善されている一方で、がん治療後に発症する二次性白血病の頻度が増加している。実際、放射線同位元素標識抗体薬や免疫調節薬 (IMiDs) については、治療効果のみならず二次発がんの危険性を考慮する必要性も示唆されている。

我々はこれまでに、骨髄異形成症候群 (MDS) / 急性骨髄性白血病 (AML) に生じている分子異常を明らかにするとともに、複数の分子異常が蓄積し、複合的かつ協調的に作用することにより発症・進展・病態に関与していること、同種骨髄移植症例に発症したドナー由来白血病において、健常ドナー血液細胞中に白血病発症の基盤となる遺伝子変異 (Initiating 変異) を有するクローンが既に存在していることを明らかにしてきた。これらの結果は、二次性白血病の発症には、Initiating 変異あるいは既に存在する Initiating 変異に加えて Driver/Passenger 変異の蓄積が化学療法や放射線療法によって誘発された外因的要因と、それら変異を排除できない宿主側の内因的要因が加わることにより、*de novo* AML よりも短時間で AML の発症に至る可能性を示唆している。本研究では、治療関連二次性白血病の網羅的分子異常解析を *de novo* 白血病症例と比較しつつ実施するとともに、同定された遺伝子変異を有する Initiating/Founding clone の存在を正常血液細胞で高感度に検出することにより、発症基盤となる特徴的な分子異常や前治療特異的な遺伝子変異の蓄積様式の存在を検討した。

方法および結果

1. 治療関連骨髄性腫瘍における遺伝子変異

13例の治療関連骨髄性腫瘍（AML/MDS）発症症例を対象とした（表1）。

表1. 二次性白血病一覧

症例番号	年齢 (yr)	一次腫瘍	化学療法	二次性白血病	染色体核型	発症期間 (月)
1	24	胚細胞腫瘍	トポイマーゼ阻害剤	MDS	複雑	4
2	65	膀胱腫瘍	白金製剤	MDS	複雑	36
3	57	非ホジキンリンパ腫	アクリル化剤	CMML	複雑	12
4	71	食道癌	白金製剤	MDS	複雑	6
5	66	多発性骨髄腫	アクリル化剤	MDS	複雑	30
6	71	卵巣腫瘍	白金製剤	MDS	複雑	52
7	58	非ホジキンリンパ腫	アクリル化剤	CMML	正常	48
8	27	骨肉腫	アクリル化剤	AML	t(15;17)	3
9	66	脂肪肉腫	アクリル化剤	AML	複雑	6
10	72	非ホジキンリンパ腫	アクリル化剤	MDS	Der(13)(q12)	1
11	76	非ホジキンリンパ腫	アクリル化剤	MDS	正常	84
12	39	多発性骨髄腫	アクリル化剤	MDS	複雑	48
13	25	胚細胞腫瘍	トポイマーゼ阻害剤, アクリル化剤	MDS	t(11;19)	4

13例の治療関連白血病症例を解析した。

病型は、MDS：9例、慢性骨髄単球性白血病（CMML）：2例、AML：2例であった。二次性白血病発症時年齢は24歳から76歳であり、一次腫瘍に対する最終治療から二次性白血病発症までの期間は、1か月から、最長で84ヶ月であった。一次腫瘍に対し使用された化学療法としてはアルキル化剤を含むものが9例と最も多数であった。染色体核型検査では、8例が3種類以上の異常を伴う複雑核型であった。これら症例の網羅的遺伝子変異解析結果を表2に示す。TP53、TET2遺伝子変異がそれぞれ6例に認め最も高頻度に認められる遺伝子異常であった。また、エピジェネティクスの状態に影響を与える遺伝子（TET2, DNMT3A, IDH2, EZH2）の変異が、8例と高頻度に認められた。一方、de novo AMLに高頻度に認められる細胞増殖の促進に関与する遺伝子変異は、PTPN11遺伝子変異を1例に認めただけで、二次性白血病とde novo AMLに生じている遺伝子変異に大きな違いがあることを明らかにした¹⁾。

表2. 二次性白血病で同定された遺伝子変異

症例番号	TP53	TET2	DNMT3A	EZH2	IDH2	GATA2	NOTCH1	PTPN11	ZRSR2
1	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
2	変異有	正常	変異有	正常	正常	正常	変異有	正常	正常
3	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
4	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
5	変異有	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
6	変異有	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
7	正常	変異有	正常	変異有	正常	正常	正常	正常	変異有
8	正常	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
9	正常	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
10	正常	変異有	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
11	正常	正常	変異有	正常	変異有	正常	正常	正常	正常
12	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	変異有	正常
13	正常	正常	正常	正常	正常	変異有	正常	正常	正常

TP53遺伝子、エピジェネティック関連遺伝子の変異が高頻度で認められた。

2. リンパ系腫瘍後の二次性骨髄性腫瘍の経時的遺伝子変異

リンパ系腫瘍に対する治療後に、二次性骨髄性腫瘍を発症した3例について、一次腫瘍と二次腫瘍細胞に生じている遺伝子変異をエクソーム解析により比較した。

多発骨髄腫 (MM) に対し、アルキル化剤を中心とした化学療法と自己末梢血幹細胞移植術を実施し、寛解を維持中、30ヶ月後にMDSを発症した症例 (表1. 症例番号5) におけるMMおよびMDS細胞のエクソーム解析による遺伝子変異の比較を行った。MM細胞では *SF3B4*, *DNMT3A* などを含む24種類の遺伝子に変異が認められた。MDSでは *TP53*, *TET2* などを含む28の遺伝子変異が認められた。これらの遺伝子変異は造血器腫瘍細胞に高頻度で認められる遺伝子変異であるが、MM細胞、MDS細胞に共通して認められる遺伝子変異は同定されず、また、寛解時の正常血液細胞においても検出されなかった。

濾胞性リンパ腫 (FL) に対し、アルキル化剤を中心とした化学療法と自己末梢血幹細胞移植術を実施し、寛解を維持中、48ヶ月後にCMMLを発症した症例 (表1. 症例番号7) におけるFLおよびCMML細胞のエクソーム解析による遺伝子変異の比較を行った。FLでは *ALK* などを含む25の遺伝子変異が、CMMLでは *ZRSR2* や *EZH2* を含む27の遺伝子変異が認められ、両者共通する遺伝子変異として *TET2* 遺伝子変異が認められた (図1)。 *TET2* 遺伝子変異は、患者頬粘膜より採取したDNAでは認められず、somatic変異であることが確認された。本患者のFL細胞は *BCL2/JH3* 遺伝子の再構成を伴っており、腫瘍細胞特異的な塩基配列を指標として高感度にFL細胞を同定することができる。注目すべき事は、本患者の末梢血幹細胞およびCMML細胞では *BCL2/JH3* 遺伝子の再構成が検出されず、これら細胞にはFL細胞の混入は認めなかったにも関わらず、 *TET2* 遺伝子変異は、正常末梢血幹細胞にも同定された (図2)。この結果は、正常造血幹細胞レベルで既に *TET2* 遺伝子変異を有する Initiating clone が存在し、更なる遺伝子変異の蓄積によってFL、CMMLが発症した可能性を示唆するものである。

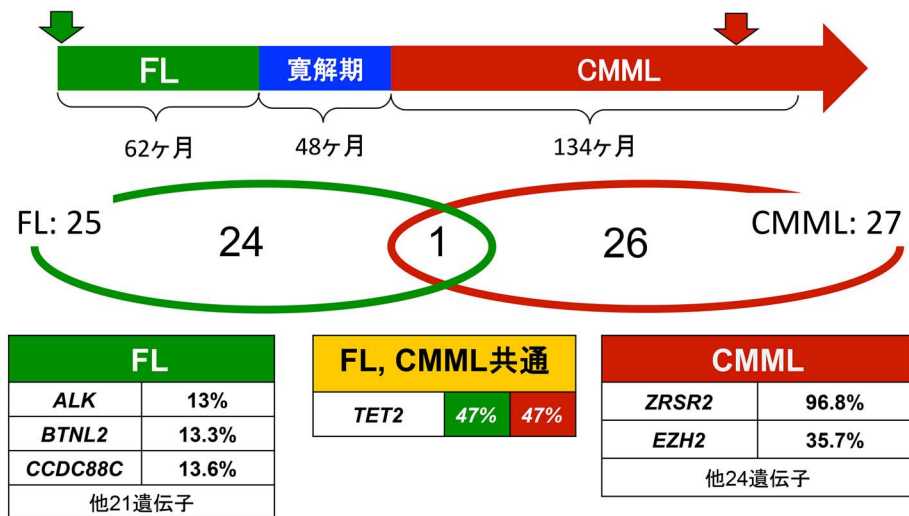


図1. 濾胞性リンパ腫に対する自己末梢血幹細胞移植術後CMMLを発症した症例

濾胞性リンパ腫 (FL) では *ALK* などを含む25の遺伝子変異が、CMMLでは *ZRSR2* や *EZH2* を含む27の遺伝子変異が認められ、両者共通する遺伝子変異として *TET2* 遺伝子変異が同定された。

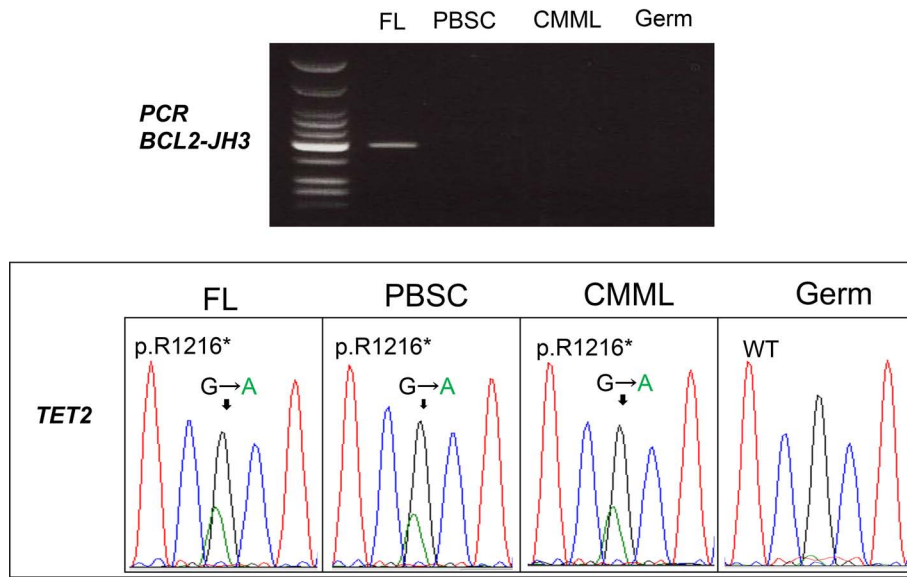


図2. 二次性 CMML を発症した症例における *TET2* 遺伝子変異の経時的変化

TET2 遺伝子変異は、患者頬粘膜より採取した DNA では認められず、somatic 変異であった。本患者の FL 細胞は *BCL2-JH3* 遺伝子の再構成を伴っているが、末梢血幹細胞および CMML 細胞では *BCL2-JH3* 遺伝子の再構成が検出されず、これら細胞には FL 細胞の混入は認めなかったにも関わらず、*TET2* 遺伝子変異は、正常末梢血幹細胞にも同定された。

濾胞性リンパ腫（FL）に対し、アルキル化剤を中心とした化学療法を実施中に MDS を発症した症例（表 1、症例番号 10）における FL および MDS 細胞のエクソーム解析による遺伝子変異の比較を行った。FL では *BCL2* などを含む 38 の遺伝子変異が、MDS では *TET2* を含む 13 の遺伝子変異が同定された。本症例では、FL および MDS 細胞に共通する somatic 変異は認められなかったが、*c-MYB* の 404 番目のセリン以降が欠失する遺伝子変異が germline に認められた（図 3）。本遺伝子変異は、白血病の発症・進展との関連が報告されており²⁾、造血器腫瘍の発症基盤となる Initiating 変異としての機能解析が必要である。

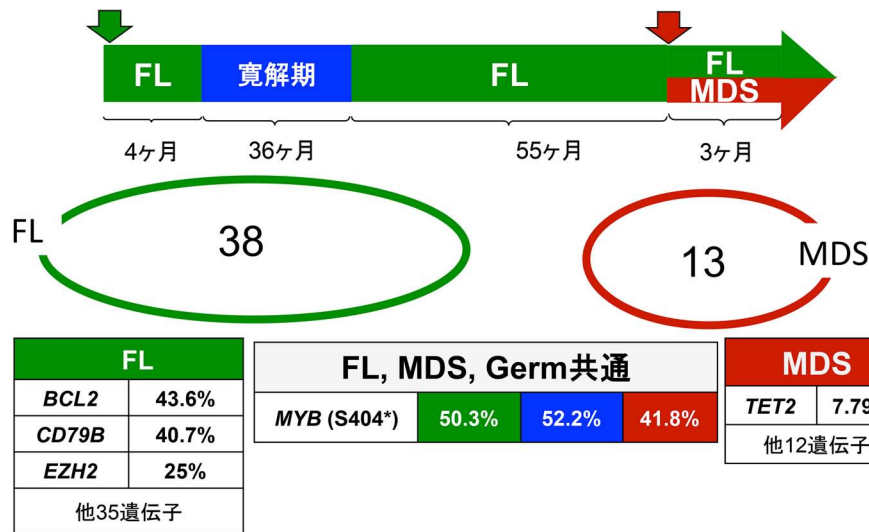


図3. 濾胞性リンパ腫に対する化学療法を実施中にMDSを発症した症例

濾胞性リンパ腫（FL）では *BCL2* などを含む 38 の遺伝子変異が、MDS では *TET2* を含む 13 の遺伝子変異が同定された。本症例では、FL および MDS 細胞に共通する somatic 変異は認められなかったが、*c-MYB* の 404 番目のセリン以降が欠失する遺伝子変異が germline に認められた。

考 察

本研究では、治療関連二次性白血病の分子病態の解析を行った。治療関連二次性白血病では、*de novo* AML と異なり、*TP53* 遺伝子やエピジェネティクス関連遺伝子の変異が高頻度に認められたことより、遺伝子の不安定性や Initiating clone の存在がその発症基盤に関与していることが強く示唆される。注目すべきことは、悪性リンパ腫の治療後に二次性の骨髄性腫瘍を発症した 2 例において、一次性腫瘍と二次性腫瘍に共通する遺伝子変異の存在が同定されたことである。近年、正常人における網羅的遺伝子変異解析の結果、高齢者造血細胞にはエピジェネティクス関連遺伝子の変異を有するクローンの存在が指摘されている。また、我々も同種造血幹細胞移植実施症例において、ドナー由来白血病の発症例では、ドナー造血幹細胞中に既に遺伝子変異を有するクローンが存在することを明らかにしている³⁾。今回造血幹細胞中に同定された *TET2* 遺伝子変異は、加齢に伴う background 変異によるものか、何らかの要因によって引き起こされたものかについては、一次腫瘍発症前の検体が得られないために結論を得ることはできず、更なる検証が必要である。一方、白血病発症に関連する *C-MYB* 遺伝子の germline レベルでの変異が同定された症例が見出されたことより、germline 変異を有することによって、複数の造血器腫瘍が発症した可能性も示唆されることとなった。これらの結果は、二次性造血器腫瘍の発症機構には、複数の要因による遺伝子変異を有するクローンの存在が関与する可能性を示唆しており、更に詳細な検討を実施中である。

共同研究者

本研究の共同研究者は、名古屋大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学の石川裕一、西山誉大である。本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H, Kato T, Yamamoto E, Suzuki K, Chen F, Asou N, Ohtake S, Miyawaki S, Miyazaki Y, Sakura T, Ozawa Y, Usui N, Kanamori H, Kiguchi T, Imai K, Uike N, Kimura F, Kitamura K, Nakaseko C, Onizuka M, Takeshita A, Ishida F, Suzushima H, Kato Y, Miwa H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Naoe T. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. *Leukemia*. 2014 Aug;28(8):1586-95. doi: 10.1038/leu.2014.55. PubMed PMID: 24487413.

- 2) Tomita A, Watanabe T, Kosugi H, Ohashi H, Uchida T, Kinoshita T, Mizutani S, Hotta T, Murate T, Seto M, Saito H. Truncated c-Myb expression in the human leukemia cell line TK-6. *Leukemia*. 1998 Sep;12(9):1422-9. PubMed PMID: 9737692.
- 3) Yasuda T, Ueno T, Fukumura K, Yamato A, Ando M, Yamaguchi H, Soda M, Kawazu M, Sai E, Yamashita Y, Murata M, Kiyoi H, Naoe T, Mano H. Leukemic evolution of donor-derived cells harboring IDH2 and DNMT3A mutations after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. 2014 Feb;28(2):426-8. doi: 10.1038/leu.2013.278. PubMed PMID: 24067491.