

200. 血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫の治療モデルの作製

坂田 麻実子

筑波大学 医学医療系 血液内科

Key words : T 細胞リンパ腫, 遺伝子変異, TET2, RHOA

緒 言

AITL は、進行期で発見されることが多く、リンパ節腫脹、免疫 γ グロブリン高値、免疫不全の合併、再発難治性の経過を特徴とする悪性リンパ腫の一種である。遺伝子発現プロファイルの研究から、濾胞性ヘルパー T 細胞を起源とすると報告された¹⁾。

AITL では、エピゲノム調節因子をコードする *TET2*, *DNMT3A*, *IDH2* 遺伝子に高頻度に変異がみられる。これらの既知の遺伝子変異の中では AITL においては *TET2* 遺伝子変異が最も多く、著者の解析では AITL の 82 % に *TET2* 遺伝子の機能欠損型変異を認めた²⁾ (図 1)。プロモーター領域のシトシンメチル化は重要なエピゲノム制御機構であり、主として遺伝子発現を抑制するメカニズムとして知られる。*TET2* はメチル化シトシン (mC) をヒドロキシメチル化シトシン (hmC) へ変換し、これによりシトシンが脱メチル化されることにより遺伝子発現に影響する、あるいは hmC 自体がエピゲノム標識となって遺伝子発現を調節する役割があると考えられている。そこで、*TET2* 遺伝子の機能欠損型変異によって、シトシンメチル化調節に破綻を来すことが予想される。*TET2* 遺伝子変異は AITL のみならず、さまざまな血液がんでみられる。そこで、幅広い血液がん共通の腫瘍抑制の仕組みであると考えられる。

AITL および AITL 関連リンパ腫の遺伝子解析の結果から、AITL の 70 % において *RHOA* をコードする遺伝子の特定の塩基に高頻度遺伝子変異がみられることを発見した (c.G50T, p.G17V, 以下 G17V *RHOA* 変異と称する²⁾ 図 1)。G17V *RHOA* 変異は他の血液がんではみられず、AITL に特異的であった。*RHOA* は Small GTPase の一つであり、GTP 結合活性型と GDP 結合不活性型の間を行き来することで下流シグナルを伝達する。G17V *RHOA* 変異体は GTP/GDP に結合しない機能欠失型であった²⁾。

これらの遺伝子変異が実際にどのような機序によって T 細胞リンパ腫を引き起こしているかについては明らかではなかった。そこでマウスモデルを作製し、リンパ腫発症の仕組みを明らかにすることとした。

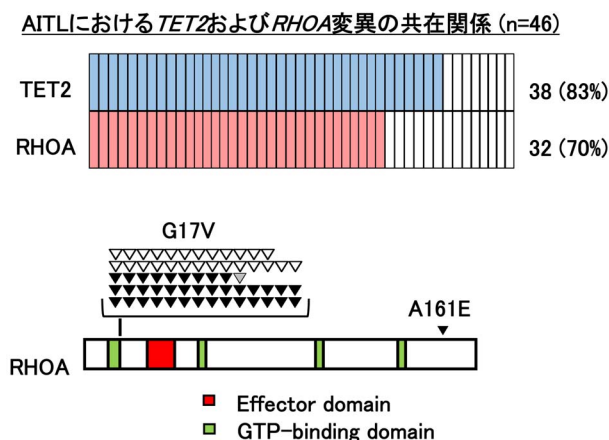


図 1. AITL における遺伝子変異

AITL では *TET2* 変異と *RHOA* 変異の共在がみられる。

方 法

Tet2 ジーントラップマウス (*Tet2^{gt/gt}*) : TET2 遺伝子座のイントロン 2 にジーントラップベクターが挿入されたマウスを主たる解析に用いた (図 2)。

Tet2 コンディショナルノックアウトマウス (*Tet2^{ckO}*) : *Tet2* 遺伝子座のイントロン 10 と 3'UTR に loxP 配列が挿入されたマウス (Cancer Cell 2011) と *Mx-Cre* マウスを交配した。Polyinosinic: polycytidylic acid (pIpC) を 3-5 週に投与し、遺伝子のエクソン 11 を欠損させた (図 2)。

RHOA 変異体発現トランスジェニックマウス (*RHOA-Tg*) : *CD2* プロモーター下にヒト *RHOA* の cDNA を発現させた (図 2)。

これらのマウスのリンパ腫発症の有無、リンパ腫を発症した場合には、組織学的解析、免疫染色、メチル化解析を行った。

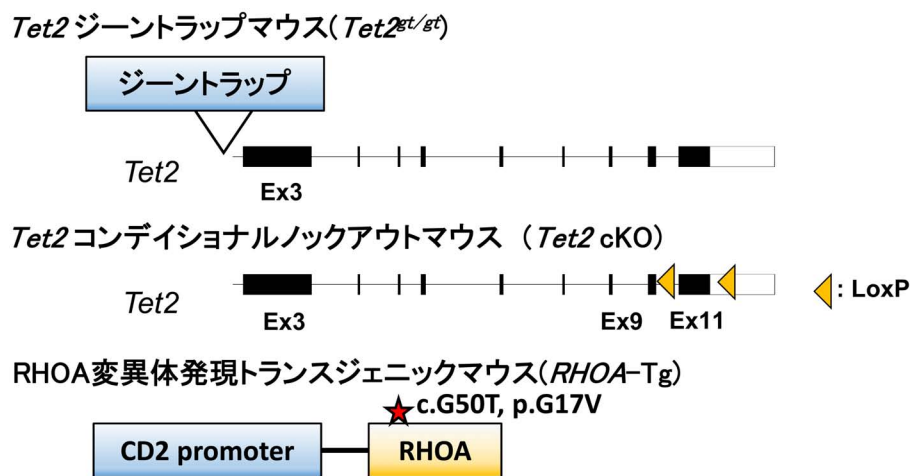


図 2. ゲノム異常を再現することによる T 細胞リンパ腫マウスの作製

TET2 遺伝子異常を再現するため、*Tet2* ジーントラップマウスおよび *Tet2* コンディショナルノックアウトマウス、*RHOA* 遺伝子変異を再現するため、*RHOA* トランスジェニックマウスを用いた。

結果および考察

Tet2^{gt/gt} マウスでは、濾胞性ヘルパー T 細胞に類似した細胞が加齢とともに次第に増加した。さらに、平均 67 週齢と超高齢になってから、リンパ腫を発症した³⁾ (図 3A)。リンパ腫の遺伝子発現プロファイルから、濾胞性ヘルパー T 細胞に類似していた (図 3B)。上述のように AITL の腫瘍細胞は濾胞性ヘルパー T 細胞に類似した遺伝子発現プロファイルを呈することから、この点では AITL に類似している。一方、マウスリンパ腫組織では血管の増生といった AITL の組織学的特徴はみられないことから、AITL を部分的にモデルすると考えられた。

BCL6 は B 細胞の生存に重要な転写因子として知られ、B 細胞リンパ腫では染色体転座、増幅、遺伝子変異によって腫瘍を引き起こすことが知られていた。一方、T 細胞においては、濾胞性ヘルパー T 細胞の分化運命決定因子として働くことが知られる。先に B 細胞リンパ腫において、*BCL6* 遺伝子座のサイレンシング領域はしばしばメチル化され、これにより *BCL6* 遺伝子が高発現することが報告されていた⁴⁾。*Tet2^{gt/gt}* マウス T 細胞リンパ腫では、*Bcl6* の高発現と同時に *Bcl6* 遺伝子座のサイレンシング領域の高メチル化がみられることを見いだした (図 3C、D)。そこで、*Tet2* の機能低下により *Bcl6* 遺伝子座の高メチル化が生じ、これによる *Bcl6* の高発現により濾胞性ヘルパー T 細胞への分化誘導、最終的には腫瘍化が生じると推測された。*Tet2* 機能欠損単独では、リンパ腫発症までの期間が極めて長く、また病理学的にも AITL の特徴を一部しか再現しないことから、AITL の発症には、*Tet2* 以外の因子が寄与しているものと考えられた。

EL4 マウス T 細胞性白血病細胞株では *Bcl6* 遺伝子座のメチル化と発現上昇を認めており、デシタビンによるメチル化の低下に伴って *Bcl6* の発現低下を認めた³⁾。

Tet2 KO と *RHOA*-Tg を交配したマウスは AITL のモデルとしてより適切であると考えられるが、現在詳細を解析中である。脾腫やリンパ節腫大を認めており、本研究により AITL の発症機序が一層明らかになると期待される。

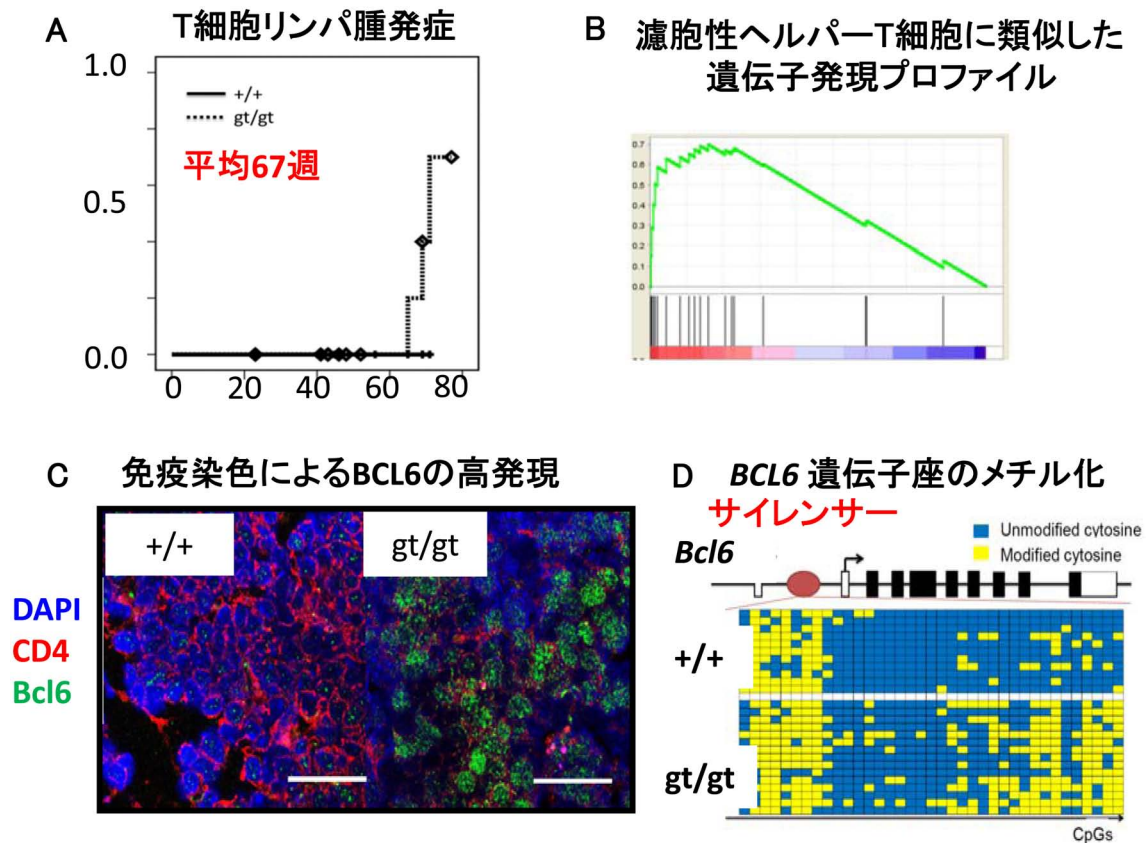


図 3. *Tet2*^{gt/gt} マウスにおける T 細胞リンパ腫の発症

Tet2 遺伝子の機能低下により濾胞性ヘルパー T 細胞に似た性質をもつ T 細胞リンパ腫を発症する。Scale bar: 20 μ m.

ヒト AITL の遺伝子変異解析の結果からは、TET2 機能低下、RHOA 変異が腫瘍化に重要な役割を担っていることが強く示唆される。*Tet2* 遺伝子改変マウスでヒト AITL に部分的に類似した T 細胞リンパ腫を発症したことは、*TET2* の役割を強く示唆する結果であった。今後 *RHOA* 遺伝子改変マウスの解析を用いることで、遺伝子変異によるリンパ腫発症のメカニズムがさらに明らかになると期待される。

文 献

- 1) de Leval L, Gisselbrecht C, Gaulard P. Advances in the understanding and management of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. Br J Haematol. 2010 Mar;148(5):673-89. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.08003.x.
- 2) Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, et al. Somatic RHOA mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma. Nat Genet. 2014 Feb;46(2):171-5. doi: 10.1038/ng.2872.
- 3) Muto H, Sakata-Yanagimoto M, Nagae G, et al. Reduced TET2 function leads to T-cell lymphoma with follicular helper T-cell-like features in mice. Blood Cancer J. 2014 Dec 12;4:e264. doi: 10.1038/bcj.2014.83.
- 4) Lai AY, Fatemi M, Dhasarathy A, Malone C, Sobol SE, Geigerman C, Jaye DL, Mav D, Shah R, Li L, Wade PA. DNA methylation prevents CTCF-mediated silencing of the oncogene BCL6 in B cell lymphomas. J Exp Med. 2010 Aug 30;207(9):1939-50. doi: 10.1084/jem.20100204.