

リンパ芽球性リンパ腫/急性リンパ性白血病の網羅的 遺伝子解析

愛知県がんセンター

血液・細胞療法部 医長 加藤 春美
部長 山本 一仁

研究の背景・目的

リンパ系前駆細胞腫瘍である成人リンパ芽球性リンパ腫（LBL）と成人急性リンパ性白血病（ALL）は WHO 分類では同一の範疇に分類されている。両者の区別は骨髄中の腫瘍細胞の比率のみで一般的に区別されており、明確な病理学組織学的鑑別が困難である。申請者らは、これまで LBL の治療開発に取り組み治療成績の向上に取り組むとともに、両疾患のタンパク発現に関する相違について解析を進めてきた。一般的に骨髄中の腫瘍細胞割合が高く ALL と診断される対象であってもリンパ節病変を有する症例に対しては、LBL に特化した治療法を応用することで予後が改善されることを申請者らは学会および論文報告を行った（文献1）。

再発・難治性 ALL/LBL の予後は不良である。小児科領域では LBL/ALL の罹患率の高さより、再発・難治性 ALL/LBL に対する研究が活発に行われており、臨床的および基礎的なデータ解析結果が発表されている（文献2，3）。成人でも臨床成績として、通常治療を実施された難治性 ALL/LBL のデータについて報告が行われているが（文献1，4）、特に希少疾患である成人 LBL での分子生物学的検討に関するデータは乏しい。

本研究の目的は成人 ALL/LBL の臨床検体を用い、分子病態の特徴を示す遺伝子異常を同定し、また臨床的なデータ解析をすすめて予後との相関について検討をおこなうことで、将来的な再発・難治 LBL/ALL の治療成績の改善を目指すことを目的としている。

研究の対象および方法

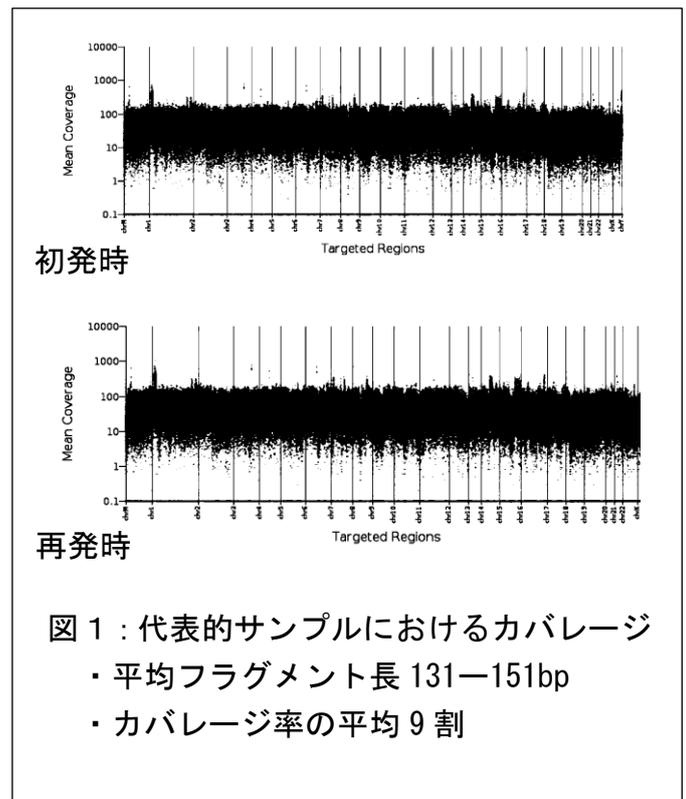
愛知県がんセンター血液・細胞療法部で診断・治療をうけた ALL/LBL の臨床検体を使用し、全エクソン解析を実施した。サンプルとしては腫瘍量が 8 割以上含まれている検体を利用し、腫瘍量混在の少ない検体については、セルソーターまたは磁器ビーズを用いた細胞分離法をもちいて、サンプル内の腫瘍量が 8 割以上となるように調整を行った。正常コントロールとしては、末梢血単核球または腫瘍サンプルでの正常細胞領域の部分を利用した。今回の解析に加えて、ALL の遺伝子解析の結果として既報で得られている代表的遺伝子変異についての検討も行った。再発・難治 ALL/LBL の治療成績は不良であると考えられているが、遺伝子解析結果と臨床との相関をみるために、当院での再発・難治 ALL/LBL に対する臍帯血移植の臨床成績の検討も同時にすすめた。

研究結果

解析に先立って、抗原による表現型解析（文献 1）を行い、ALL/LBL のサブタイプ分析をおこなった。腫瘍量が 8 割以上含まれる臨床検体として 4 例の ALL/LBL について遺伝子解析をおこなった。正常検体をコントロールとして、腫瘍に特徴的な遺伝子変異の検索をおこなった。同定された遺伝子について遺伝子機能や、また既知に報告されている遺伝子（*NOTCH1* 遺伝子、*FBXW7* 遺伝子、*PTEN* 遺伝子）との関連性を含め解析をおこなった。

臨床的な検討として、再発難治 ALL/LBL 2 例を含む当院で臍帯血移植をうけた 9 例について検討をおこなった。2 例のうち、初回不応の 1 例は臍帯血移植後

に再発し、移植後 7 か月目に原病死となった。他の再発例は現在無病生存で約 14 年経過している。臨床成績と遺伝子解析結果との相関を含め、今後検討を進



める予定である。

考察

本研究では、遺伝子解析と同時に、臨床成績と関連性のある遺伝子異常を検討することができるため、ALL/LBLの病態解明のみならず、予後や治療層別化に有用性のあるデータが見いだせる可能性が内包されていると考える。今回、包括同意の得られている残余検体を使用した。血液疾患では診断時に採取されたサンプル自体がもともと少量で、含まれている腫瘍量も少なく、解析が困難なケースが存在した。今回の研究で得られた疾患関連遺伝子のうち、ALLで特徴とされる遺伝子として報告されている *NOTCH1* 遺伝子、*FBXW7* 遺伝子、*PTEN* 遺伝子がカバーされていない症例が存在していた。実験系の至適化のため今後、末梢血の血清、血漿などを用いての検討も進めていく予定である。

予後不良である再発・難治 ALL/LBL では同種移植が適応となる。今回検討した症例で、特に初回化学療法不応の症例の予後は不良であり、今後新薬を含め治療成績の改善が必要であると考えられた。今回の検討で用いた臍帯血の保存法については特筆すべし、通常臍帯血の保存には液体窒素冷却装置が世界的に汎用されているが、液体窒素冷却装置は物的・人的なコスト面がかかることが問題と考えられている。代替方法として他の造血幹細胞の保存のために用いられているディープフリーザーでの保存法を臍帯血保存に応用し、長期での臨床成績が良好であることを初めて報告した（成果論文）。本手法は当院での臍帯血保存のコスト面での経済的・人的負担軽減になるのみならず、今後の検証・汎用化がすすめば、国内外における有用性の高いデータである可能性があると考えられた。

文献

1. Kato H, Yamamoto K, Kodaira T, et al. Immunophenotypic analysis of adult patients with T-cell lymphoblastic lymphoma treated with hyper-CVAD. *Hematology*. 2018;23(2):83-88.
2. Burkhardt B, Reiter A, Landmann E, et al. Poor outcome for children and adolescents with progressive disease or relapse of lymphoblastic lymphoma: a report from the berlin-frankfurt-muenster group. *J Clin Oncol*. 2009;27(20):3363-3369.
3. Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic

leukaemia. *Lancet Oncol.* 2009;10(2):147-156.

4. Jain N, Lamb AV, O'Brien S, et al. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia/lymphoma (ETP-ALL/LBL) in adolescents and adults: a high-risk subtype. *Blood.* 2016;127(15):1863-1869.

論文

本研究で解析対象とした予後不良の ALL/LBL を含めた予後解析を行い、論文報告を下記行い、本年度日本血液学会総会で学会報告を行う予定である。予後に関わる責任遺伝子につき臨床データとの比較・解析を行い、さらに検討をすすめる予定である。

(論文) Kato H, Taji H, Kodaira T, Kinoshita T, and Yamamoto K. Long-term engraftment stability of umbilical cord blood cells preserved in a -135°C mechanical freezer. *Leuk Res.* 2021 (in press)