

平成 29 年 3 月 27 日

芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍 (BPDCN) の 原因遺伝子変異を発見

名古屋大学医学部附属病院(病院長・石黒直樹)先端医療・臨床研究支援センターの奥野友介(おくのゆうすけ)特任講師、病理部の加藤省一(かとうせいいち)准教授、名古屋大学大学院医学系研究科(研究科長・高橋雅英)小児科学の鈴木喬悟(すずききょうご)大学院生らの研究グループは、白血病の一種である芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍 (blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm; BPDCN) の遺伝子解析を行い、その原因となる MYB 融合遺伝子を発見しました。

BPDCN は、非常に稀ですが、小児にも成人にも発症することがある白血病です。白血病は、血液を作る器官である骨髄に発生するのが普通ですが、この白血病は皮膚の発疹として発症することが多いという特徴があります。

確立された治療法がなく、他の白血病に対する抗がん剤治療や、骨髄移植をはじめとした造血細胞移植が試みられますが、再発することが多く、予後の悪い白血病です。

本研究グループは、BPDCN の遺伝子解析を行い、MYB 融合遺伝子を発見しました。MYB 融合遺伝子は、がん遺伝子として知られる MYB 遺伝子と、いくつかの他の遺伝子 (PLEKH01 遺伝子、ZFAT 遺伝子、DCPS 遺伝子、MIR3134 遺伝子) が間違っただけにつなぎ合わされる (融合する) ことで生じます。その結果、通常は抑えられている MYB 遺伝子が、他の遺伝子を活性化する働きが強まり、正常な細胞が白血病細胞に変化することが分かりました。本研究では、この融合遺伝子の検査法を確立し、また、いくつかの MYB 融合遺伝子によって生じる治療標的を特定しました。

本研究成果により、BPDCN に対する MYB 融合遺伝子を検出する診断法や、MYB 融合遺伝子を標的とした治療法の臨床応用が加速することが期待されます。

本研究成果は、英国科学誌「Leukemia」(英国時間 2017 年 3 月 27 日付けの電子版) に掲載されました。

芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍(BPDCN)の原因遺伝子変異を発見

ポイント

- 確立された治療法がない白血病である、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍(BPDCN)の遺伝子解析を行い、MYB 融合遺伝子を発見しました。
- MYB 融合遺伝子の検査法を確立し、この白血病の診断に役立てることが可能になりました。
- 現在利用可能な分子標的薬の有効性が予想され、治療成績の改善が期待されます。

1. 背景

芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍(blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm; BPDCN)は、小児にも成人にも発症することがある白血病です。非常に稀な白血病ですが、小児では特に稀であり、小児例の報告は日本において年間 1～数例です。白血病は、血液を作る器官である骨髄に発生するのが普通ですが、この白血病は皮膚の発疹として発症することが多いという特徴があります(図 1)。

BPDCN は、進行が非常に速い白血病です。確立された治療法と呼べるものはなく、他の白血病に用いる抗がん剤治療や、骨髄移植などの造血細胞移植が行われます。しかしながら、再発することが多く、小児においても成人においても、予後の悪い白血病の一つです。

白血病は、遺伝子の異常(遺伝子変異)が生じることによって発症します。多くの白血病においては、原因となる遺伝子変異が特定されていますが、BPDCN の原因遺伝子変異は不明でした。これまでも、他のいくつかの研究グループが BPDCN の遺伝子解析を行いました。BPDCN の原因とはっきりいえるものは発見されていませんでした。遺伝子の異常を明らかにすることは、診断法や治療法を開発していく上での第一歩であり、BPDCN においても、原因となる遺伝子変異を発見することが望まれています。



図 1: BPDCN による皮膚の発疹の例
診断時に、暗紫色で 2cm 大の腫瘍を形成していた。

2. 研究成果

本研究グループは、次世代シーケンサーを用いて、RNA シーケンス解析という遺伝子解析を行いました。5 名の小児患者と 9 名の成人患者について解析した結果、小児の全例(100%)と、成人の 4 例(44%)について、MYB 融合遺伝子という遺伝子変異を発見しまし

た。

MYB 融合遺伝子は、がん遺伝子として知られる MYB 遺伝子と、いくつかの他の遺伝子(PLEKHO1 遺伝子、ZFAT 遺伝子、DCPS 遺伝子、MIR3134 遺伝子)が間違っただけの形につながり合われる(融合する)ことで生じていました(図 2)。

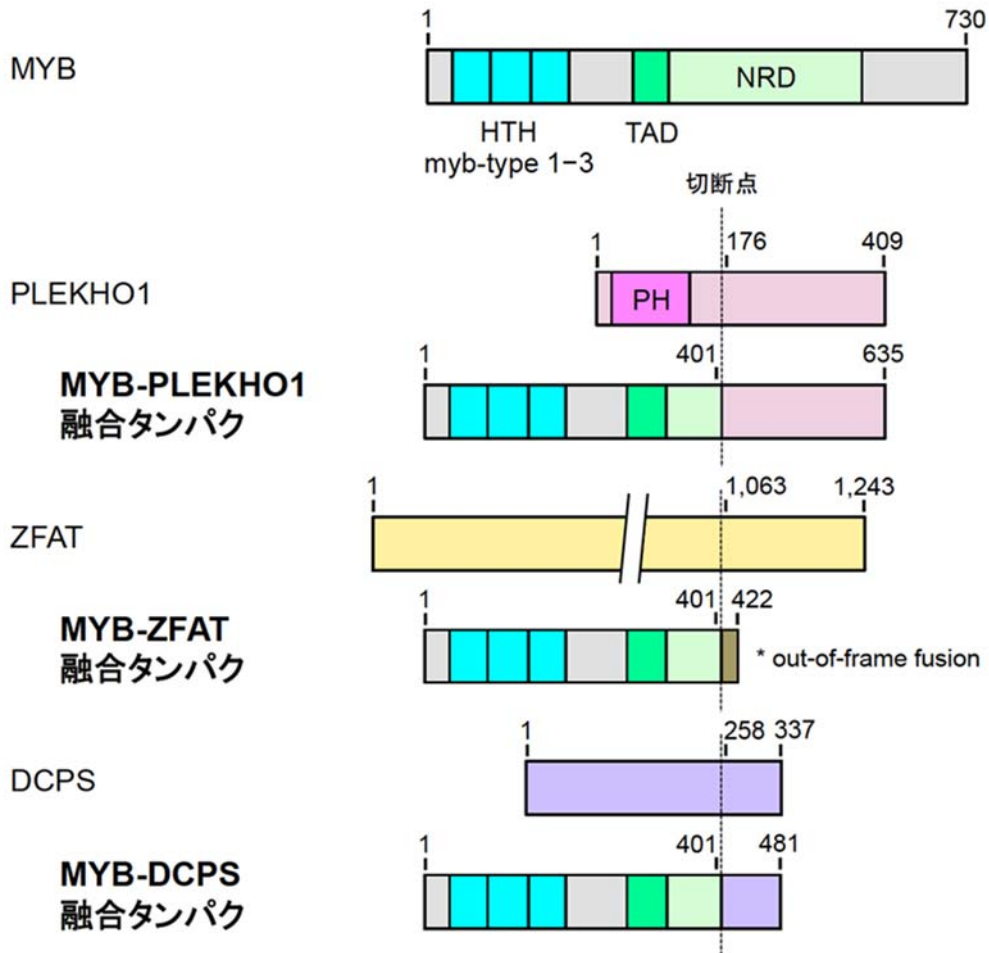


図 2 : MYB 融合遺伝子のドメイン構造

検出された遺伝子の融合から推定される、MYB 融合蛋白のドメイン構造を示す。破線は遺伝子・蛋白の切断点(融合点)を示す。HTH, helix-turn-helix; NRD, negative regulatory domain; PH, pleckstrin homology domain; TAD, transcriptional activation domain。

MYB 遺伝子の働きは、他の増殖等に関わる遺伝子を活性化させることです。MYB 遺伝子の構造は、他の遺伝子を活性化させるための部分(HTH ドメイン、TAD ドメイン)と、その機能を普段は抑えておくための部分(NRD ドメイン)に分類されます。いくつか見つかった融合遺伝子に共通することとして、MYB 融合遺伝子では、機能を抑えておくための NRD ドメインだけが失われていることが明らかになりました。すなわち、この融合遺伝子の機能は、本来抑えられているべき MYB 遺伝子の機能が、異常に活性化してしまうことであると推定されました。

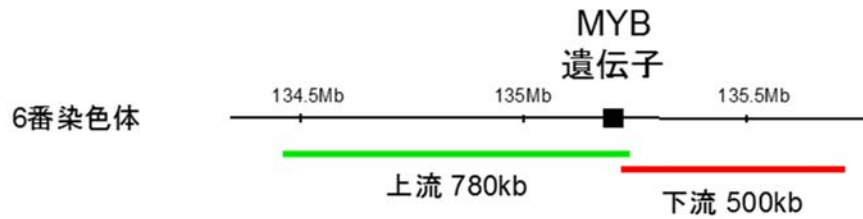
本研究では、RNA シーケンス解析に加えて、他の研究グループが行った全エクソーム解析などの解析も行いました。その結果、同じ BPDCN の患者さんでも、小児例と成人

例では、それぞれの遺伝子変異に違いがあることが判明しました。すなわち、小児では MYB 融合遺伝子の他には全く遺伝子変異が見つからないのに対して、成人では、MYB 融合遺伝子に加えて、他の白血病でもよく変異が見つかる遺伝子(TET2 遺伝子、ASXL1 遺伝子、IZKF1 遺伝子、ZRSR2 遺伝子、PHF6 遺伝子等)に、1つ以上の遺伝子変異が見つかることがわかりました。この結果は、小児と成人の BPDCN は臨床的な病理分類としては同じ疾患であるとされていましたが、生物学的には異なる部分がありことを示しており、BPDCN に対する治療法を開発していく上で考慮すべきポイントであると考えられます。

MYB 融合遺伝子は、他のがんでも発見されています。例として、神経膠腫(しんけいこうしゅ)という脳腫瘍の一部や、腺様嚢胞癌(せんようのうほうがん)という唾液腺腫瘍のほぼ全例に見つかります。また、マウスを用いた動物実験では、MYB 遺伝子の機能を抑える NRD ドメインをなくすと、形質細胞腫瘍と呼ばれる白血病が発症することも明らかになっています。

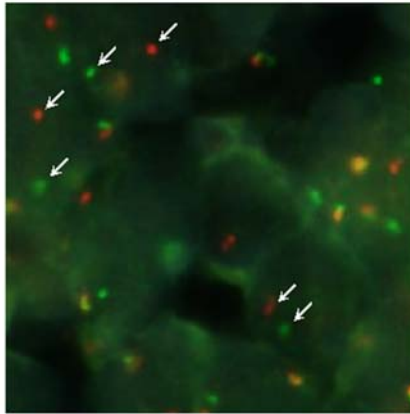
本研究では、細胞株(試験管のなかで培養が可能な実験に用いる細胞)を用いた実験を行いました。細胞株に MYB 融合遺伝子を導入して、どのような変化が生じるかを調べました。その結果、MYB 融合遺伝子を導入した細胞株では、MYB 遺伝子が活性化させることで知られている遺伝子が活性化されることに加えて、CXCR4、CD68、CD363、CD355 等の遺伝子が特定されました。これらの遺伝子から作られるタンパク質は、細胞の表面に発現します。これらのタンパク質に特異的に結合する抗体薬という種類の薬を、BPDCN に対する新しい治療薬として開発できる可能性が考えられます。

MYB 融合遺伝子は、MYB 遺伝子と他の遺伝子がつなぎ合わさっています。つまり、MYB 遺伝子は2つに切断されており、そこに他の遺伝子がつながっています。これを検出することで、BPDCN の診断法として役立つ可能性を考え、fluorescence in situ hybridization (FISH)法という方法を検討しました(図 3)。

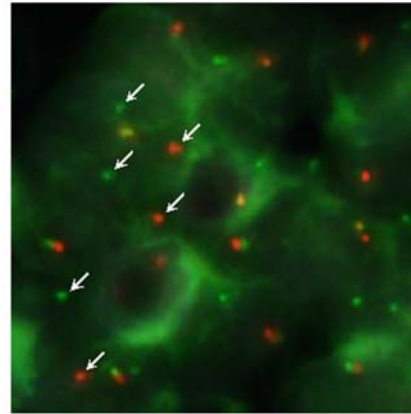


MYB融合遺伝子陽性例

症例 5

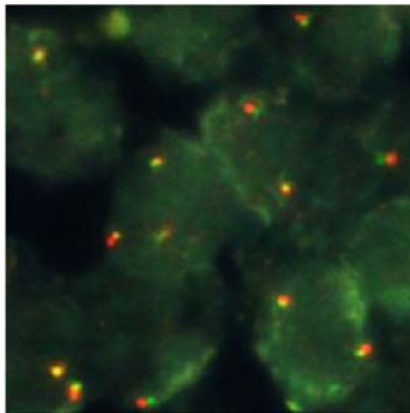


症例 8



MYB融合遺伝子陰性例

症例 17



症例 18

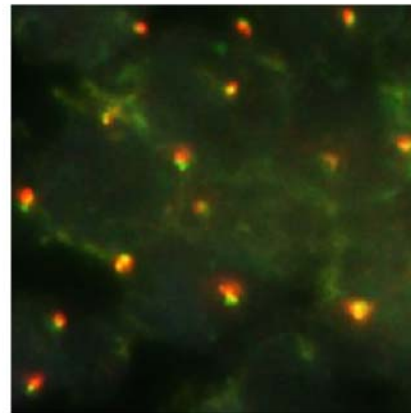


図 3 : Fluorescence in situ hybridization (FISH)法による解析

緑蛍光が MYB の上流、赤蛍光が MYB の下流を検出するように設計されたプローブを用いて、MYB 遺伝子の切断を検出した(MYB 遺伝子が正常であれば緑と赤の蛍光が重なり、切断されていれば緑と赤が異なる場所に検出される)。白い矢印は緑と赤の蛍光の乖離(split signal)を示す。

この方法は細胞の中における遺伝子や染色体の位置を特定する方法です。MYB 遺伝子の両側に、片方は緑色、もう片方は赤色で検出できるマーカーを準備し、これで細胞を染色しました。正常な状態であればこの両側は隣同士なので、緑色と赤色が重なって黄色の蛍光が検出されます。しかしながら、MYB 融合遺伝子が見つかった患者の白血病細胞では、緑色と赤色が別々の場所に観察されました(上段の 2 枚の写真)。ここで用いた FISH 法は、他の融合遺伝子の検査でよく用いられている検査法であり、すぐにでも臨床応用が

可能と考えられます。

3. 今後の展開

がんや白血病の原因となる遺伝子変異を特定することは、診断法や治療法を開発するための重要な基盤です。本研究成果は、BPDCNの診断法や、治療法を開発するための基盤となるものであると考えられます。それに加えて、本研究では、実際の診療にすぐ応用が可能な診断法を確立し、将来の治療標的となりうる遺伝子も特定しています。本研究の成果は、BPDCNの治療成績の改善に直接的に貢献するものと期待されます。

現在開発が進んでいるBPDCNの治療法について、MYB融合遺伝子を治療効果の予測に用いることができるかもしれません。例えば、BCL2阻害薬という治療薬をBPDCNに用いる研究が進んでいますが、BCL2遺伝子はMYB遺伝子が活性化させる標的の1つであり、MYB融合遺伝子の有無が治療効果を予測する可能性があります。

MYB融合遺伝子は、いくつかのがんにまたがって発見される遺伝子変異であり、どれかの疾患で開発された治療法が、他の疾患に使える可能性が十分に考えられます。例えば、神経膠腫や腺様嚢胞癌はBPDCNに比べれば圧倒的に患者数が多く、新たな治療法が開発される可能性は高いと言えます。BPDCNの患者さんは人数が少なく、治療法開発という意味では不利な白血病ですが、今回の発見によって、新たな治療法が導入される可能性が高まると考えられます。

4. 用語説明

・次世代シーケンサー：従来の蛍光キャピラリーシーケンサーである「第1世代シーケンサー」と対比させて使われる用語。DNA断片を並列して解析し、既存のゲノム配置と比較して再構築する手法を用いており、従来のシーケンサーに比べ、大量の塩基配列を低コストで迅速に解析可能。

5. 発表雑誌

Kyogo Suzuki, Yuka Suzuki, Asahito Hama, Hideki Muramatsu, Masahiro Nakatochi, Masaharu Gunji, Daisuke Ichikawa, Motoharu Hamada, Rieko Taniguchi, Shinsuke Kataoka, Norihiro Murakami, Daiei Kojima, Yuko Sekiya, Eri Nishikawa, Nozomu Kawashima, Atsushi Narita, Nobuhiro Nishio, Yozo Nakazawa, Hideto Iwafuchi, Ken-ichiro Watanabe, Yoshiyuki Takahashi, Masafumi Ito, Seiji Kojima, Seiichi Kato, and Yusuke Okuno. **Recurrent MYB rearrangement in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm.** *Leukemia*. (英国時間 2017年3月27日8時45分付で accepted article preview 掲載)

English ver.

http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps_data/material/nu_medical/en/res/ResearchTopics/2016/leukemia_20170327en.pdf