

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670444

研究課題名(和文)悪性リンパ腫を構成する炎症細胞の起源の解明

研究課題名(英文)Origin of inflammatory cells constituting malignant lymphoma tissue

研究代表者

千葉 滋 (Chiba, Shigeru)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：60212049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：悪性リンパ腫の組織には、腫瘍細胞の他に様々な炎症性細胞が存在する。本研究では、腫瘍細胞と炎症細胞の起源が同一であることを証明した。具体的には、骨髄中で種々の血球やリンパ球に分化する能力のある造血前駆細胞の一つに遺伝子変異が生じて「がん準備状態」となり、そこから腫瘍細胞と炎症細胞が派生することを示した。炎症細胞が「がん準備状態」の細胞から派生することを、初めて証明した。

研究成果の概要(英文)：Inflammatory cells participate in the malignant lymphoma tissues together with tumor cells. In this research, we demonstrated that tumor cells and inflammatory cells in the malignant lymphoma tissues have a common ancestor cell. In detail, a single hematopoietic progenitor cell becomes a "cancer-preparing cell" by sequentially acquiring gene mutations, which eventually produces tumor cells and inflammatory cells. This is the first to prove such a concept.

研究分野：血液内科

キーワード：悪性リンパ腫 炎症細胞 遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

悪性リンパ腫においては、腫瘍性リンパ球も微小環境を構成する非腫瘍性炎症細胞も造血幹細胞由来である。我々は、一部のT細胞性リンパ腫の起源が遺伝子変異を獲得したクローン性造血前駆細胞であることを示唆する結果をすでに得ていることから、T細胞リンパ腫組織を構成する腫瘍細胞と炎症細胞の起源に興味をもたれる。

2. 研究の目的

T細胞性リンパ腫の標本から、腫瘍細胞とその周辺の非腫瘍性炎症細胞とを1細胞ずつ補足してDNAを調整し、全エクソンシーケンスで変異を明らかにした遺伝子についてシーケンスを行い、腫瘍化したT細胞と非腫瘍性炎症細胞とに共通の体細胞性変異が存在することを実証する。

3. 研究の方法

予め変異解析を行ってある血管免疫芽球性T細胞リンパ腫(angioimmunoblastic T-cell lymphoma; AITL)、および分類不能型末梢性T細胞性リンパ腫(peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified; PTCL-NOS)の標本を免疫染色し、laser補足マイクロダイセクション法によって、腫瘍細胞、B細胞、顆粒球、マクロファージ、非腫瘍性T細胞を補足してDNAを調整し、全ゲノム増幅後にサンガー法および次世代シーケンサーを用いて標的シーケンス解析を行なう。これにより、腫瘍を構成している腫瘍細胞と炎症細胞について、ゲノム異常からみた異同あるいは階層性を明らかにする。

4. 研究成果

15例についてPD1(濾胞性ヘルパーT細胞の形質をもつ腫瘍性T細胞を染色)、及びCD20(反応性B細胞を染色)で免疫染色し、それぞれについてシーケンス解析を行った。腫瘍組織でRHOAあるいはIDH2変異を認めたケースでは、全例においてPD1陽性細胞分画でそれぞれの変異が同定されたが、CD20陽性細胞分画では検出されなかった。腫瘍組織でTET2あるいはDNMT3A変異を認めたケースでは、全例において両者の分画でそれぞれの変異が同定された。さらに、腫瘍組織でX遺伝子に変異を認めた2例においては、PD1陽性細胞分画では変異が検出されなかった一方、CD20陽性細胞分画でのみ腫瘍組織で同定された変異と同一の変異が同定された。このことは、同一起源のクローン性前駆細胞から、濾胞性ヘルパーT細胞の

形質をもつ腫瘍細胞と、リンパ腫組織に浸潤する炎症性B細胞とが派生することを示唆する。さらに、このようにして派生したB細胞の少なくとも一部は、腫瘍性T細胞とは異なる遺伝子変異が生じて独自のクローン性増殖を来していることも示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計41件)

- Nishikii H, Kanazawa Y, Umemoto T, Goltsev Y, Matsuzaki Y, Matsushita K, Yamato M, Nolan GP, Negrin R, Chiba S. Unipotent megakaryopoietic pathway bridging hematopoietic stem cells and mature megakaryocytes. *Stem Cells* (Epub ahead of print) 査読有 (DOI: 10.1002/stem.1985)
- Kasenda B, Ferreri AJ, Marturano E, Forst D, Bromberg J, Ghesquieres H, Ferlay C, Blay JY, Hoang-Xuan K, Pulczynski EJ, Fosså A, Okoshi Y, Chiba S, Fritsch K, Omuro A, O'Neill BP, Bairey O, Schandelmaier S, Gloy V, Bhatnagar N, Haug S, Rahner S, Batchelor TT, Illerhaus G, Briel M. First-Line Treatment and Outcome of Elderly Patients with Primary Central Nervous System Lymphoma (PCNSL) - A Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis. *Ann Oncol* (Epub ahead of print) 査読有 (DOI: 10.1093/annonc/mdv076)
- Nguyen TB, Sakata-Yanagimoto M, Nakamoto-Matsubara R, Enami T, Ito Y, Kobayashi T, Obara N, Hasegawa Y, Chiba S. Double somatic mosaic mutations in TET2 and DNMT3A-origin of peripheral T cell lymphoma in a case. *Ann Hematol* (Epub ahead of print) 査読有 (DOI: 10.1007/s00277-015-2332-0)
- Kato T, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Miyake Y, Yokoyama Y, Asabe Y, Kamada Y, Ueno M, Obara N, Suzukawa K, Hasegawa Y, Kitabayashi I, Uchida K, Hirao A, Yagita H, Kageyama R, Chiba S. Hes1 suppresses acute myeloid leukemia development through FLT3 repression. *Leukemia* 29(3):576-85, 2015. 査読有 (DOI: 10.1038/leu.2014.281)
- Muto H, Sakata-Yanagimoto M, Nagae G, Shiozawa Y, Miyake Y, Enami T, Kamada Y, Kato T, Yoshida K, Uchiba K, Nanmoku T, Sanada M, Obara N, Suzukawa K, Nakamura N, Aburatani H, Ogawa S, Chiba S. Reduced TET2 Function Leads to T-cell Lymphoma with Follicular Helper T cell-like

Features in mice. *Blood Cancer J* 4:e264, 2014. 査読有 (DOI: 10.1038/bcj.2014.83)
Nakamoto-Matsubara R, Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, Yanagimoto S, Shiozawa Y, Nanmoku T, Satomi K, Muto H, Obara N, Kato T, Kurita N, Yokoyama Y, Izutsu K, Ota Y, Sanada M, Shimizu S, Komeno T, Sato Y, Ito T, Kitabayashi I, Takeuchi K, Nakamura N, Ogawa S, Chiba S. Detection of the G17V RHOA mutation in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and related lymphomas using quantitative allele-specific PCR. *PLoS ONE* 9(10):e109714, 2014. 査読有 (DOI: 10.1371/journal.pone.0109714. eCollection 2014)
Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yokoyama Y, Chiba S. Disease-specific mutations in mature lymphoid neoplasms: Recent advances. *Cancer Sci* 105(6):623-9, 2014. 査読有 (DOI: 10.1111/cas.12408)
Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, Shiraishi Y, Ishii R, Miyake Y, Muto H, Tsuyama N, Sato-Otsubo A, Okuno Y, Sakata S, Kamada Y, Nakamoto-Matsubara R, Tran NB, Izutsu K, Sato Y, Ohta Y, Furuta J, Shimizu S, Komeno T, Sato Y, Ito T, Noguchi M, Noguchi E, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Suzukawa K, Nanmoku T, Hasegawa Y, Nureki O, Miyano S, Nakamura N, Takeuchi K, Ogawa S, Chiba S. Somatic RHOA mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Nat Genet* 46(2):171-5, 2014. 査読有 (DOI: 10.1038/ng.2872)
Koyama D, Kikuchi J, Hiraoka N, Wada T, Kurosawa H, Chiba S, Furukawa Y. Proteasome inhibitors exert cytotoxicity and increase chemosensitivity via transcriptional repression of Notch1 in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 28(6):1216-26, 2014. 査読有 (DOI: 10.1038/leu.2013.36)
Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, Yoshida K, Okuno Y, Bando M, Nakato R, Ishikawa S, Sato-Otsubo A, Nagae G, Nishimoto A, Haferlach C, Nowak D, Sato Y, Alpermann T, Nagasaki M, Shimamura T, Tanaka H, Chiba K, Yamamoto R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Nakamaki T, Ishiyama K, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Chiba S, Mori H, Nakauchi H, Koefler HP, Aburatani H, Haferlach T, Shirahige K, Miyano S, Ogawa S. Recurrent mutations in multiple components of the

cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet* 45(10):1232-7, 2013 査読有 (DOI: 10.1038/ng.2731)
Kojima M, Nishikii H, Takizawa J, Aoki S, Noguchi M, Chiba S, Ando K, Nakamura N. MYC rearrangements are useful for predicting outcomes following rituximab and chemotherapy: multi-center analysis of Japanese patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 54(10):2149-54, 2013. 査読有 (DOI: 10.3109/10428194.2013.771398)

〔学会発表〕(計 171 件)

Tran Bich Nguyen, 千葉滋. Identification of Cell-Type-Specific Mutations in Angioimmunoblastic T-Cell Lymphoma. The American Society of Hematology 56th Annual Meeting and Exposition. 2014 年 12 月 6-9 日 . Moscone Center. San Francisco . 米国.

千葉滋. Origin of and its clonal evolution in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. 1st Taiwan-Japan Hematology Forum. 2014 年 14 月 13 日 . National Taiwan University. 台北 . 台湾.

坂田(柳元)麻実子, 千葉滋. Multistep tumorigenesis in peripheral T-cell lymphoma. 6th T-cell lymphoma Forum. 2014 年 1 月 23-25 日 . Windham Hotel. San Francisco. 米国.

千葉滋. 骨髄異形成症候群のゲノム異常と病態 . 第 75 回日本血液学会学術集会 . 2013 年 10 月 11-13 日 . 札幌市教育文化会館 . 札幌 .

〔図書〕(計 2 件)

Sakata-Yanagimoto M, Chiba S. Notch2 signaling in mast cell development and distribution in the intestine. *Methods Mol Biol* pp.1220:79-89, 2015. Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology (Eds: Hughes MR, McNagny KM), Springer Science+ Business Media New York

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称 : T 細胞リンパ腫の検出方法
発明者 : 千葉滋、柳元麻実子、小川誠司
権利者 : 筑波大学、東京大学
種類 : 特許願
番号 : 特願 2013-096582
(International application No. PCT/JP2014/062112)
出願年月日 : 平成 25 年 5 月 1 日

国内外の別：国内および国外

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ

www.ketsunai.com

6．研究組織

(1)研究代表者

千葉 滋（CHIBA, SHIGERU）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：60212049

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし