

特徴的な染色体転座を有する ALL 細胞の変異遺伝子の解析 Analysis of acute lymphoblastic leukemia with a t(1; 4) translocation

内野慶人¹⁾、濱田高志¹⁾、高橋宏通^{1),2)}、入山規良¹⁾、八田善弘¹⁾、中山智祥²⁾、武井正美¹⁾

Yoshihito UCHINO¹⁾, Takashi HAMADA¹⁾, Hiromichi TAKAHASHI^{1),2)}, Noriyoshi IRIYAMA¹⁾, Yoshihiro HATTA¹⁾, Tomohiro NAKAYAMA²⁾, Masami TAKEI¹⁾

¹⁾日本大学医学部 内科学系血液膠原病内科学分野、²⁾日本大学医学部 病態病理学系臨床検査医学分野

【要旨】

報告の無い染色体転座 t(1;4) (p34;q31) を伴った急性リンパ性白血病の細胞について解析を行い、発症に関与した可能性のあるキメラ遺伝子 ZNF362/MAML3 を同定した。このキメラ遺伝子が Notch シグナル系や Wnt シグナル系の活性化を来すことにより腫瘍につながった可能性が示唆された。

【背景】

急性リンパ性白血病は成人において予後不良な造血器悪性腫瘍の一つであり、化学療法単独での長期生存率は満足のものではない。¹⁾ 一方、急性前骨髄球性白血病や慢性骨髄性白血病など一部の白血病においては、腫瘍増殖に関わるシグナルをブロックする分子標的治療薬の登場により予後の大幅な改善が認められており、急性リンパ性白血病においても腫瘍化のメカニズムのより詳細な解明が待たれる。今回我々は、これまで報告の無い染色体転座を伴った急性リンパ性白血病を経験し、発症機序の解明を行った。

【症例】

50 代男性。20XX 年 8 月、発熱で近医を受診した際に汎血球減少を認め、血液内科にて骨髄穿刺し、ペルオキシターゼ陰性の芽球が骨髄有核細胞の 20% 以上を占めていたことから急性白血病の診断で加療目的に当院紹介受診となった。当院にて再度施行した骨髄穿刺により得られた芽球細胞の表面マーカー解析結果より B 細胞性急性リンパ性白血病の診断となった。この際同時に提出した骨髄染色体分析の結果で 46, XY, t(1;4) (p34;q31) の染色体異常を 20 細胞中 15 細胞で認めた (図 1)。診断後速やかに JALSG ALL 202-O レジメンによる寛解導入化学療法を行った。血球回復後の骨髄穿刺

で完全寛解の達成を確認した。この際同時に提出した骨髄染色体分析の結果は正常核型となっていた（図1）。

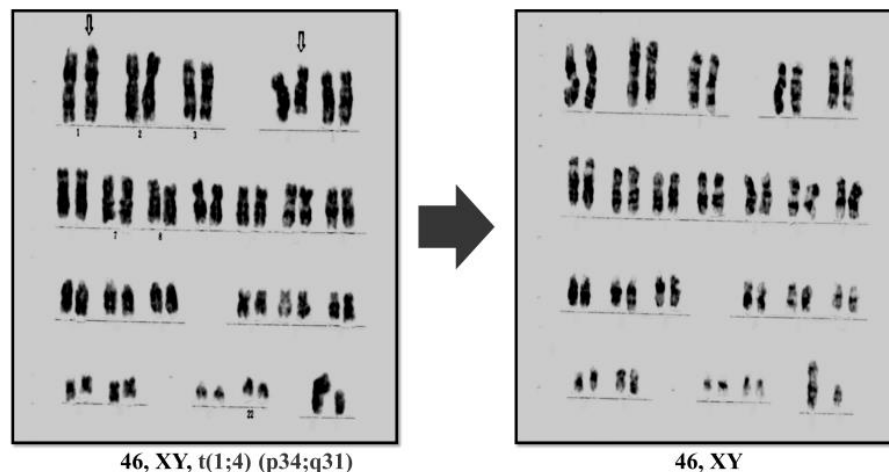


図1 診断時ならびに寛解時の骨髄染色体検査結果
診断時に認めた t(1;4)(p34;q31)（図左）は寛解達成後消失した（図右）。

【方法及び結果】

診断時の患者骨髄液を検体として用いた。Burrows-Wheeler Aligner: 0.7.10 を用いてリファレンス配列へのマッピングを行った。リファレンス配列は UCSC Genome Browser hg19 を用いた。マッピング出来たリードから構造変異の検出に使用するリードを選択し、BreakDancer: 1.4.5 を用いて Structural Variation を検出した。Integrative Genomics Viewer: 2.4.10 を用いて目視にて最終的な Break point の検出を行った。

相補的な染色体転座(図2)について各々分析したところ、1番染色体の3'側と4番染色体の3'側の融合染色体では転座部位の近傍にストップコドンがあることから、キメラ遺伝子は転写されていない可能性が高いことが判明した。一方で1番染色体の5'側と4番染色体の5'側の融合染色体ではストップコドンを挟まず Zinc finger(ZNF) 362/Mastermind-like(MAML) 3 という融合遺伝子を形成し得ることが判明した。

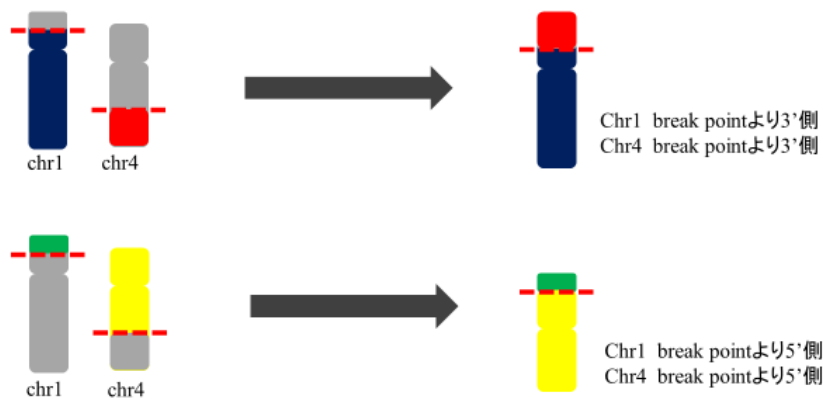


図2 相補的な転座染色体

転座により上下2つの異常染色体が生じる。5'側同士(図下)の染色体は転座近傍にストップコドンを確認できなかった。

引き続き、同様の診断時検体に対して PCR direct sequence 法を用いて ZNF362/MAML3 融合遺伝子が転写されている事を確認した(図3)。

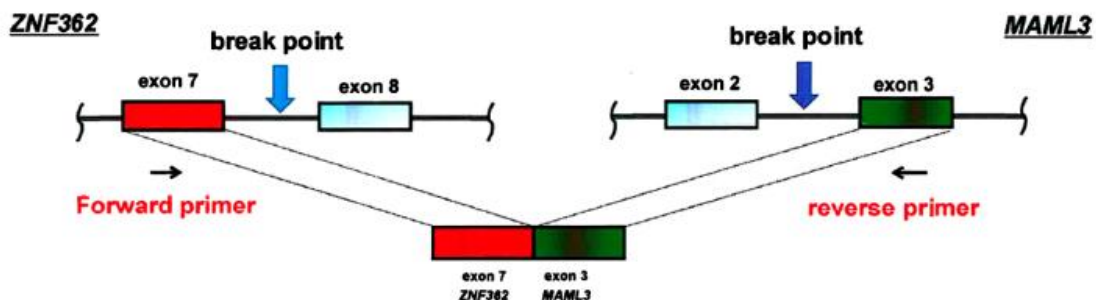


図3 PCR direct sequence 法での転写の確認

実際に白血病細胞において ZNF362/MAML3 が転写されている事を確認した。

[考察]

白血病の寛解達成に伴い、発症時に認めていた染色体異常が消失していることから、この染色体異常は白血病細胞に由来するものと考えられた。次世代シーケンサーを用いた白血病細胞の解析により、この染色体異常により産生されるキメラ遺伝子の候補として ZNF362/MAML3 が挙げられた。MAML3 は Notch シグナル系における転写の co-activator としての働きの他、²⁾ Wnt シグナル系における転写の co-activator としての働き³⁾ を有している。Wnt シグナル系の下流には cyclin D1 や c-myc がある。これら遺伝子は既知の B 細胞性リンパ腫や白血病の発症に関わるものであり、^{4), 5)} 診断時検体

においてこれらタンパク発現が正常細胞に比較して亢進していることを証明したいと考えている。今回診断時に認めた染色体異常は既報のないものであるが、変異遺伝子の下流で活性化されているシグナルは既知の白血病と同様である可能性がある。白血病発症に関与するより下流の共通したシグナルを同定することで新たな治療のターゲットの同定に結び付く可能性があると考えられる。

[結論]

46, XY, t(1;4) (p34;q31)の染色体異常を有する急性リンパ性白血病細胞において、ZNF362/MAML3 キメラ遺伝子とその発症に関与した可能性が示唆された。

[参考文献]

- 1) Yoshihiro Hatta: Acute Lymphoblastic Leukemia. *Rinsho Ketsueki*. 2014; 55: 185-190.
- 2) Motoo Kitagawa: Notch Signalling in the Nucleus: Roles of Mastermind-like (MAML) Transcriptional Coactivators. *J Biochem*. 2016; 159: 287-294.
- 3) Marie-Clotilde Alves-Guerra, Chiara Ronchini, Anthony J. Capobianco: Mastermind-like 1 is a specific coactivator of β -catenin transcription activation and is essential for colon carcinoma cell survival. *Cancer Res*. 2007; 67: 8690-8698.
- 4) Salah Aref, M Mabed, M El-Sherbiny, T Selim, A Metwaly: Cyclin D1 Expression in Acute Leukemia. *Hematology*. 2006; 11: 31-34.
- 5) Katsuhiro Miura, Hiromichi Takahashi, Masaru Nakagawa, Asami Izu, Masahiko Sugitani, Daisuke Kurita, Masashi Sakagami, Shimon Ohtake, Yoshihito Uchino, Atsuko Hojo, Hitomi Kodaira, Mai Yagi, Yujin Kobayashi, Noriyoshi Iriyama, Sumiko Kobayashi, Satomi Kiso, Yukio Hirabayashi, Yoshihiro Hatta, Masami Takei: Clinical significance of co-expression of MYC and BCL2 protein in aggressive B-cell lymphomas treated with a second line immunochemotherapy. *Leuk Lymphoma*. 2016; 57: 1335-1341.