

(第7号様式)

学位論文審査結果の要旨

氏名	徳田 桐子
審査委員	主査 浜川 裕之 副査 安川 正貴 副査 北澤 理子 副査 青戸 守 副査 児島 洋

論文名：CLTC-ALK 陽性先天性芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍の発症機序についての検討

学位論文要旨

【背景】樹状細胞 (DC) には conventional DC と形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DC: pDC) があるが、いずれも腫瘍化する。芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍 (blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: BPDCN) は pDC 前駆細胞由来の腫瘍で、60 歳以上の男性で発生しやすく、大多数の症例に皮膚病変が見られる。骨髄、末梢血浸潤、リンパ節浸潤も伴い、化学療法に抵抗性を有し、予後不良な疾患である。全体の約 2/3 の症例で染色体異常が認められるが、疾患に特異的な遺伝子異常は報告されていない。

Clathrin heavy chain (*CLTC*)-Anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) 融合遺伝子は、これまで血液腫瘍としては anaplastic large cell lymphoma (ALCL) や diffuse large B-cell lymphoma といったリンパ系腫瘍でのみ認められている。本論文は血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) で発症し *CLTC-ALK* 融合遺伝子による BPDCN に進展した症例について腫瘍細胞の起源と白血病化過程を研究したものである。

【方法と結果】申請者は患児の末梢血と骨髄細胞を用いて解析を行った。HLH 診断時の染色体検査は正常女性核型だったが、病勢の進行とともに 46, XX, t(2;17;8) (p23;q23;p23) の異常が出現した。白血病化した際には 45, XX, t(2;17;8) (p23;q23;p23), -7 といった clonal evolution が認められた。この時点で白血病細胞の表面マーカーの特徴から BPDCN と確定診断した。染色体検査結果から *CLTC* (17q23) と *ALK* (2p23) の関与が疑われたため、*ALK* break apart probe を用いて

FISHを実施した。その結果17番染色体上に3' ALK signalを認め、ALK遺伝子の切断と転座を確認した。その後RT-PCRとシーケンスにてCLTC exon31とALK exon19のin frame融合を確認し、CLTC-ALK融合遺伝子の形成を証明した。さらに、発症が新生児期であったため、胎生期での腫瘍細胞形成を疑いガスリーカードでの解析を行った。まずinverse PCR法にて、CLTC intron 31とALK intron 18に位置する腫瘍細胞のgenomic breakpointを同定した。次にCLTC-ALK fusion pointを検出するプライマーを設定してsemi-nested PCRを行ったところ、ガスリーカード24切片中17切片にCLTC-ALK融合遺伝子を認めた。これによりCLTC-ALKは胎生期に形成されていたことが判明した。さらにFACSにて白血病細胞の解析をすすめたところ、白血病細胞分画中にはALCLで認められるCD30陽性細胞、造血前駆細胞であるCD34陽性細胞、CD14陽性単球までも含まれることが判明した。そこで末梢血から各細胞分画をsortした後にDNAを抽出しCLTC-ALK融合遺伝子の存在を検討したところ、上述した白血病細胞分画のみならず造血幹細胞、単球、好中球、T,Bリンパ球にも融合遺伝子の存在を認めた。ただしRNAを用いた検討では、白血病細胞と単球にしかCLTC-ALKの発現は認められなかった。

【考察】

以上の結果から申請者は本症例におけるBPDCNの発症機序を検討した。急性白血病では少なくとも2つのタイプの遺伝子変異の機序が白血病化には必要と考えられている。ひとつはチロシンキナーゼ活性のような増殖や生存シグナル(クラスI変異)で、もうひとつは転写因子の変異のような分化障害である(クラスII変異)。CLTC-ALKは活性化チロシンキナーゼであるため、これが造血前駆細胞に発生すると、分化抑制を受けることなく融合遺伝子を維持したまま下流域の各種血液細胞へ分化する。そこにmonosomy7がセカンドヒットとして加わることで白血病化したと思われる。CLTC-ALKはCD30陽性細胞にも存在したため、ALCLに進展する可能性もあったと思われるが、申請者は本症例では骨髄性腫瘍を惹起するmonosomy7の関与により、リンパ球系でなく骨髄系の腫瘍に進展したと考えた。さらに初発症状としてのHLHはCLTC-ALKを有する単球により引き起こされたと考えた。

【結論】

小児でのBPDCN報告例は少なく、本例が36例目である。また、BPDCNで初めてCLTC-ALK融合遺伝子を検出した。さらに、この遺伝子異常が胎生期に形成され、T細胞、単球にも発現していることから、造血前駆細胞の段階で異常が生じたことを解明した。本研究はCLTC-ALK変異の存在が稀な腫瘍であるBPDCNの起源を知る上で、重要である。

本論文の公開審査会は2013年12月27日に開催された。申請者は研究内容を明確に発表し、以下の内容を含む多くの質疑に対する確に回答した。

1) 実験系での細胞分離の精度について、2) NOGマウスでの移植腫瘍の形質について、3) 小児BPDCNでのCR率は高いが、治癒率はどの程度か、4) 皮膚症状を伴わないBPDCN症例であるが、他臓器での腫瘍形成部位はどうか、5) Monosomy 7がどのように腫瘍化に関与したのか、6) 本腫瘍に対する化学療法奏効率は成人、小児で大きな差があるが、薬剤耐性に違いがあるのか。

本研究は小児HLH患者に続発したBPDCNの発症機序を詳細に遺伝子解析したものであり、今後の治療成績向上に役立つ臨床研究として高く評価される。審査会は全員一致して本論文が学位論文に値すると判定した。