

(第 12 号様式)

学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名
徳田桐子

学位論文名
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

学位論文の要約

【背景】芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍(Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm : BPDCN)は plasmacytoid dendritic cell 前駆細胞由来の腫瘍である。2008 年の新 WHO 分類から急性骨髄性白血病に分類されている。高齢男性に好発し、大部分の症例で皮膚病変を伴い、白血病に進展する症例も少なからず認められる予後不良の疾患である。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。

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考察した。

【方法と結果】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 *ALK* (2p23) の関与が疑われたため、*ALK* break-apart rearrangement probe を用いて FISH 解析を行った。その結果、17 番染色体上に 3' *ALK* signal を認め *ALK* 遺伝子内に切断点を有する染色体転座が疑われた。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 DNA 上の融合点を同定した。次に *CLTC-ALK* の融合点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

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、単球、T リンパ球にしか *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）。本症例では胎生期に *CLTC-ALK* が発生した。*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。その後 class II 変異が生じて白血病幹細胞を生じ、さらに monosomy7 が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、本症例では機序は不明だが、monosomy7 の関与によりリンパ球系でなく骨髓系の腫瘍に進展したと考えられた。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られた。

【結論】これまで BPDCN を含む骨髓性腫瘍で *CLTC-ALK* 融合遺伝子を有する報告はなく、本症例が第 1 例目である。*CLTC-ALK* 変異の存在が、稀な腫瘍である BPDCN の起源を解明する上で重要な手がかりとなった。

なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

Kiriko Tokuda, Minenori Eguchi-Ishimae, Chihiro Yagi, Mika Kawabe, Kyoko Moritani,

Toshiyuki Niiya, Hisamichi Tauchi, Eiichi Ishii, and Mariko Eguchi

CLTC-ALK Fusion as a Primary Event in Congenital Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm

Genes Chromosomes & Cancer. 2014 Jan;53(1):78-89. doi: 10.1002/gcc.22119