

血液疾患の実臨床におけるリキッドバイオプシーの利用

富田 章裕

藤田医科大学 医学部 血液内科学：愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪1番地98（〒470-1192）

講演要旨

悪性リンパ腫は、血液悪性腫瘍の中で最も頻度の高い疾患であり、その数は近年上昇傾向にある。悪性リンパ腫に対する主な治療戦略は、長らく多剤併用化学療法であったが、近年のモノクローナル抗体医薬や小分子化合物などの標的薬の登場にともない、抗体薬併用化学療法のほか、化学療法薬を用いない、いわゆる「chemo free」治療の割合も高まってきている。疾患の分子診断や病型分類に加え、標的薬治療の選択においても、臨床現場における遺伝子解析の重要性が認識されつつある。悪性リンパ腫の遺伝子解析を行う際には、腫瘍組織生検検体が必須であるが、腫瘍形成を認めない例や生検が困難な部位に発症する例もあり、このような症例においては病理診断や遺伝子解析の実施が極めて困難となる。本講演では、患者の血漿、脳脊髄液などの体液を用いた遺伝子診断の可能性や微小残存病変解析などについて現状を概説し、悪性リンパ腫診療におけるリキッドバイオプシーの有用性について考察したい。

悪性リンパ腫における遺伝子異常

悪性リンパ腫は、成熟リンパ球に遺伝子異常が蓄積することで発症し、遺伝子異常が生じた成熟段階や発生場所、遺伝子異常の違いなどによって、病型の違いが生じることが明らかとなってきた。びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫は、成人悪性リンパ腫のうち約半数を占める最も頻度が高い病型であるが、腫瘍細胞における遺伝子発現や蛋白発現のプロファイルから、これまで胚中心 B 細胞様 (GCB type) と活性型 B 細胞様 (ABC もしくは non-GCB type) に分類されてきた¹⁾。これらの亜分類は、予後を含めた臨床症状にも関連することから、臨床現場においても重視されてきた。最近の網羅的遺伝子変異解析から、背景にそれぞれ特徴的な遺伝子異常が存在することが明らかとなり^{2,3)}、これらを検討することで、病理診断に加えてさらに精緻な病型分類が可能となってきた。また、最近の分子標的薬の開発も相まっ

て、個々の患者さんの遺伝子異常に即した標的薬の選択、個別化医療の可能性も現実味を帯びてきた。

リキッドバイオプシーとは

悪性リンパ腫における遺伝子解析を行う際には、通常腫瘍組織生検が必須である。しかし、腹腔内や中枢神経など、生検困難な部位に発症する場合の他、血管内大細胞型 B 細胞リンパ腫 (Intravascular Large B-cell Lymphoma: 以下, IVLBCL) のように、腫瘍を形成しない例もあり、生検検体から遺伝子を抽出することは、実臨床ではしばしば困難が伴う。そこで注目されるのがリキッドバイオプシー (Liquid Biopsy: 以下, LB) である。LB とは、患者さんの体液に存在する腫瘍由来成分を抽出して解析を行う、新たな腫瘍生検の方法である⁴⁾。末梢血中には、循環腫瘍細胞、循環腫瘍 DNA (circulating tumor DNA: 以下, ctDNA)、無細胞遊離 DNA (cell-freeDNA:

以下、cfDNA)、遊離RNA、マイクロRNA、細胞外小胞などの存在が確認されている。cfDNAは液体中に含まれる断片化したDNA全体を指し、腫瘍由来のDNA(ctDNA)の他、正常組織由来のDNAも含んでいる。腫瘍由来DNAは、血漿以外にも、唾液、便、尿、脳脊髄液の他、胸水、腹水などの体液にも存在する可能性があり、低侵襲の腫瘍由来成分の生検方法として注目されている。

悪性リンパ腫診療におけるリキッドバイオプシーの利用

これまでに私たちの研究室では、悪性リンパ腫の診断や治療実施後の微小残存病変の評価に、LBが有効であるかどうかについて検討をしてきた。IVLBCL症例の末梢血(血漿)から抽出したcfDNAの検討では⁵⁾、cfDNA濃度は正常コントロール群に比べて有意に高く、治療経過に沿った経時的な解析では、cfDNA濃度は血清LD値とも相関し、腫瘍量を反映するバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。また、cfDNAを用いた全エクソン解析も可能であり、IVLBCLのcfDNAには腫瘍由来DNAがより蓄積していること、そしてIVLBCLに特有の遺伝子異常のプロファイルを明らかにすることができた。これらを背景として現在では、臨床的に悪性リンパ腫を疑うが通常の生検では診断が困難である症例にcfDNAを用いた遺伝子解析を実施し、悪性リンパ腫特有の遺伝子異常を検出できるかどうか、そしてこの手法がリンパ腫診断に寄与するかどうかについて、前向き臨床試験を実施している。また、脳脊髄液を用いた変異解析も実施しており、特定の遺伝子変異の検出において、生検が困難である中枢神経リンパ腫の検出、診断補助として有用である可能性について確認している⁶⁾。

LBの手法を用いた遺伝子変異解析は、実臨床で患者さんへの侵襲を最小限に抑えたリンパ腫診断の補助手段として有用である可能性が高いと考えられるが、どの病型において有効であるのか、そして変異検出の感度および特異度などについて、さらなる知見の蓄積が望まれる。

参考文献

- 1) Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000 ; **403** (6769): 503–511.
- 2) Wright GW, Huang DW, Phelan JD, et al. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications. *Cancer Cell*. 2020 ; **37** (4): 551–568 e514.
- 3) 富田章裕. 悪性リンパ腫における遺伝子変異—その臨床的意義と治療開発への応用—. *臨床血液*. 2013 ; **54** (10): 1788–1798.
- 4) 富田章裕. 悪性リンパ腫におけるリキッドバイオプシーの現状と展望. *血液内科*. 2020 ; **81** (2): 266–272.
- 5) Shimada K, Yoshida K, Suzuki Y, et al. Frequent genetic alterations in immune checkpoint-related genes in intravascular large B-cell lymphoma. *Blood*. 2021 ; **137** (11): 1491–1502.
- 6) Iriyama C, Murate K, Iba S, et al. Detection of circulating tumor DNA in cerebrospinal fluid prior to diagnosis of spinal cord lymphoma by flow cytometric and cytologic analyses. *Ann Hematol*. 2021 ; doi.org/10.1007/s00277-021-04686-7.