

## 第28回 シスメックス血液学セミナー／質疑応答

## 1. 白血病の分子病態

直江 知樹

【司会・齋藤】直江先生，どうもありがとうございます。大変分かりやすく，なぜ白血病になるか，あるいは最近の分子レベルの知識をどのように診断，治療に応用していくか，ということについてお話をいただきました。

白血病でいろいろな染色体異常の図が出ましたが，あの中でランダムというグループがかなりありますね。これについては，まだどういう転座があって，どのような遺伝子異常，融合タンパクがあるかは，分かっていないところでしょうか。

【直江】ランダムの中身ですが，あれは図が細かくなりますので，いちいち書いていないという側面が一つと，二つめは本当にランダムで，どれに重要なのか，つまり病気の意味としては，原因なのか結果なのかという非常に大きなことがあるのです。染色体というのは，見ても分からないのですが，やはり部分部分で非常に弱いところ，いわゆるフラジャイル・サイトがあることが分かっておりますので，そういうものは遺伝子が非常に不安定になる結果として，たまたま切れる，たまたま増えるということもあるので，今言いましたように非常にミックスである，ということをご理解いただければと思います。ただ今後，幾つかのものが整理されて，これは原因に間違いのないというグループと，これは結果かもしれないというグループの二つに，多分，大別化されてくるのではないかと思います。

【司会】つまり，すべての染色体異常が，白血病の発症に結びつく原因であるとは限らないというわけですね。

【直江】そうです。

【司会】ありがとうございました。それでは，東京の檀先生，質問がありましたら，よろしくお願ひします。

【東京会場・檀】それでは，会場の方々からの質問を，二つお聞きしたいと思います。

一つは，母親や父親からの遺伝子で伝播する先天性白血病というのは存在するのでしょうか。存在する場合は，その発症時期や特徴がありましたら教えていただきたいという質問です。

【直江】一つずつ説明します。一つは乳児白血病という，生まれて1歳未満の乳児に白血病が起こることがあります。これは発症の時期が母体内です。母体の中で，いろいろな染色体異常が起こって，それで生まれたあとに発症するということがありますが，これは決して親の白血病がうつったわけではありません。

それから，非常に少ないのですが，先天性異常の中でp53という遺伝子に変異を有する白血病になりやすいリ・フラウメニ症候群というものがあります。これは白血病に限らず，いろいろながんを起こしやすいのですが，このような場合には白血病になりやすい体質が遺伝したということです。

三つめは，赤ちゃんが母体の中にいるときに，お母さんが白血病になってしまい，生まれてきた赤ちゃんに同じ細胞があったということがあります。ただ，これは世界中を探してもまだ10例程度で，極めて少ないです。そういう意味では，お父さん，お母さんの白血病が，そのまま子供にうつるというケースはほとんどないと言っても過言ではないと思います。もし分からなければ，また質問をください。

【東京会場・檀】ありがとうございました。それでは，もう一つ質問させていただきます。Srcというチロシンキナーゼの阻害によって，ALLに有効であるという話を聞きましたが，このことに関する詳細をご存じでしたら，お教えいただきたいという質問です。

【直江】随分，難しい質問ですね。多分，おっしゃっているのがフィラデルフィア染色体陽性の急性リンパ性白血病のことであるとすれば，最近イマチニブという薬の第2世代として，Srcキナーゼと同時に

BCR/ABLを抑えるという薬がアメリカで開発されて、臨床研究も始まっています。BCR/ABLの下流にSrcキナーゼがあるので、デュアルで、上と下の両方を抑えたほうが効果があるかもしれないという話があります。臨床的にはイマチニブだけを使っていると、耐性になってきます。そういう意味ではデュアルで抑える、または新しいABLキナーゼ阻害剤を使うと良いということはありませんが、Srcキナーゼだけを抑えて急性リンパ性白血病が治療できるかという、残念ながら、そういうデータはまだないのではないかと思います。

【東京会場・檀】ありがとうございました。

【司会】檀先生,ありがとうございました。それでは、シンガポール会場から二つ質問をお願いします。

【シンガポール】NPMの変異がAMLにあります。これは変異のホットスポットなのでしょう。NPMの蛋白質の機能にどのように影響するのでしょうか。また、予後の因子として、重要性はあるのでしょうか。

【直江】先ほどのNPMのC末、エクソン12というのは変異のホットスポットです。その結果、蛋白質の機能にどのように影響を与えるかということはまだ分かっておりません。ただ、先ほど示しましたように、細胞の核ではなくて、細胞外、つまり局在が変わることが、この変異の大きな意味であろうと考えられています。

予後にどのように影響するかということは非常に重要な質問です。我々の検討、それからイタリアの検討では、これは寛解率を上昇させる。つまり、NPM変異を持っている患者さんは、寛解率が良いということでは一致をしています。ただ、日本のJALSGの検討では、寛解率は良いのですが、実は非常に再発率が高いのです。そういう意味では、結局、予後良好マーカーとはなりません。このディスクレパンシーがなぜ起こるかということについては、よく分かりません。イタリアは、まだ長期予後に対する影響を報告しておりません。今後、彼らとディスカッションしたいと思っています。

【シンガポール】もう一つ質問があります。白血病の予防は可能でしょうか。どのような予防処置が考えられるのでしょうか。食事などで、白血病発症の

確率を下げることは可能でしょうか。例えば和食は役に立ちますか。

【直江】面白い質問をありがとうございます。多分、これは一般論として言えば、がんの予防と大きくは変わらないだろうと思います。例えば、抗がん剤の刺激は、酸化ストレスを増やします。酸化ストレスの増加は、遺伝子変異を増やします。そういうことから言いますと、酸化ストレスと遺伝子変異の間に関係があるとすれば、恐らく酸化防止剤が一定程度、影響するかもしれません。ただ、白血病の頻度は非常に少ないので、そのような研究ができるかどうかはよく分かりません。ただ、例えば抗がん剤を受ける、または放射線を受けた方が、その後二次性白血病をどのように防ぐのか、そのためにはどういう生活をすれば良いのかというのは、これからの大きなテーマかもしれません。

【司会】それでは再び東京会場から質問です。檀先生、お願いします。

【東京会場・檀】少し基本的な質問ですが、遺伝子変異の蓄積、テロメアの短小化などは、誰にでも起こりうる変異だと思いますが、白血病に実際になる人は極めて少ないということは、大部分の人の体の中では、これらの遺伝子の変異を起こした血球細胞が、免疫などの自己防衛システムで排除されるからでしょうか、という質問です。

【直江】極めて重要な質問をありがとうございます。私も、そのとおりだと思います。我々の体の中には、一定度の変異がどんどん蓄積しています。ただ、それが優勢にならなければ白血病にはならない。つまり、たまたま運悪く、がん遺伝子の傍に傷がついたという場合に、白血病が起こりうる。逆に言えば、大部分の変異は、影響を及ぼさない。逆に細胞死を早めてしまう、または質問にあったように、免疫に排除されやすい変異であるということになると思います。

【東京会場・檀】ありがとうございました。もう一つですが、さまざまな白血病は、先ほどの先生のお話からも、いろいろな染色体の転座から始まって、それによるキメラ遺伝子が発病に関連してくるというお話でした。そもそも染色体の転座を起こすという、そのメカニズムに関しては、何か分かっ

ていることはあるのでしょうか。

**【直江】**これも非常に難しい質問なのですが、DNAは核の中に $3 \times 10^9$ bp程度、長さにしますと1m近くのDNAが入っています。わずか数ミクロンの核の中に、1mものDNAが非常にコンパクトに折り畳まれていて、それが分裂のたびにほどけて、同じコピーができて、それで二つの核に分裂していくということは、考えてみれば非常に驚異なこと、想像をはるかに越えることなのです。

そのときに、DNAとDNAがからまないように、トポイソメラーゼという酵素が非常に重要であることが分かっています。トポイソメラーゼという酵素は、DNAが、もう一つのDNAを乗り越えるときに働くのです。このとき、中間段階では、二つのDNAがくっついた状態になるのです。うまく乗り越えられるか、それとも、二つの鎖がくっついて転座を起こすかは、デリケートな問題です。

先ほどの治療関連白血病で、トポイソメラーゼII阻害剤で転座が多いということは、まさにこのことと関係していると言われています。

**【東京会場・檀】**そうしますと、転座というのは、細胞内でアットランダムにいろいろな場所で起きている可能性が高く、その中で意味のある転座の場合だけが疾患として発病する。それ以外の意味のない転座の場合は、その細胞はそのまま死滅をするか、意味がなく発病までは至らない、そういうことでよろしいでしょうか。

**【直江】**そういう理解でいいと思います。

**【司会】**ここで神戸会場から、二つ質問がありますので、お答えいただきたいと思います。一つは、イマチニブがCML以外の疾患、例えばHyper eosinophilic Syndromeや、一部の骨髄増殖性症候群で有効であるようですが、有効な理由はなぜですか。標的とする遺伝子異常があるのでしょうか。または、キナーゼ活性を低下させることによるのでしょうか、という質問です。

**【直江】**ありがとうございます。Hyper eosinophilic Syndromeで、PDGFRのキメラが出ているタイプ、それからCMMoLの中でPDGFRの転座があるタイプに有効であることが知られていますので、先生が予想されるとおり、これは多分、PDGFRの

キナーゼを抑えるために効いているのではないかと思います。

問題はこのように、BCR/ABL、X/PDGFR、c-KITの変異、現在この三つについて、どれも優位な変異があった場合に、イマチニブが臨床的に非常に有効であることが分かっていますが、単に過剰発現している場合、それから単に発現している場合には、それほどの有効性が得られていないのも現状ではないかと思えます。

**【司会】**もう一つ神戸会場から、FLT3の変異についてのFLT3のワイルドタイプと、FLT3/ITDのMRDとしての意義はいかがでしょうか、という質問です。

**【直江】**FLT3を、特にITDをMRDとして使うことは、できないことはないのです。ただ、FLT/ITDの場合は、二つアレルがあるうち、全部のポピュレーション、つまり白血病細胞が100個あるとすると、100個ともに必ずしもFLT3の変異があるとは限りません。それから、もう一つの問題は、FLT3は再発したときに、新たに変更が出てくることもありますし、一部の症例はFLT3の変異がなくなることもあるのです。つまり、白血病の細胞ポピュレーションの中で、必ずしも均一ではないことが、MRDのマーカーとしてはキメラ遺伝子に比べると劣るのではないかと思っています。

**【司会】**それでは、最後にシンガポール会場からの質問があります。お願いします。

**【シンガポール】**AMLがダウン症候群で発症率が高い原因は、何だとお考えでしょうか。

**【直江】**分かりません。非常に難しい質問です。ダウン症のターゲット遺伝子、それから白血病に関与する遺伝子は何か。予後に関してはいろいろ分かってまいりました。例えばGATA1とか幾つかの遺伝子が分かってまいりましたが、そのバックグラウンドにある遺伝子がどれかということについては、まだ分かっていないと思えます。

**【司会】**白血病の遺伝子異常の意義について、あるいはその診断、治療への応用について、大変分かりやすく直江先生にお話しいただきました。また、各サテライト会場より、大変活発なディスカッションができました。どうもありがとうございました。

## 【後日ご回答をいただいた質問】

### 【質問】

- 1) ITD が 2 つ以上ある場合の予後
- 2) 末血, 骨髄での FLT3 レベル

### 【回答】

- 1) 「ITD が 2 つ以上」の意味として, ITD が両アレルに起きた場合, 片方アレルでの ITD がさらに TD を起こした場合, ITD が異なった細胞で複数見いだされる場合などが考えられます。実際これらはすべて見いだされています。しかし, 2 つ以上の ITD を有する症例の予後解析については, 残念ながら知りません。
- 2) 白血病におけるメッセージのレベルに関する論文は Blood. 2004 Mar 1;103(5):1901-8. にあります。高発現例では, FLT3 分子の活性化や予後不良に関係するようです。

### 【質問】 FLT3 の ITD について ;

- 1) ITD の生成については, 何らかの生理的機構のミステイクにより惹起されると思われませんが, どのような生理的機構の失敗によるのか, 想定されるものがあればご教示願いたく思います。
- 2) fms や c-kit の臨床材料における異常として “ITD” 様のものが検出された記録の発表はあるのでしょうか。

### 【回答】

- 1) DNA の複製過程では, 二重鎖がほどけて 3' → 5' 方向の親鎖から合成されるリーディング鎖と 5' → 3' 方向の親鎖から合成されるラギング鎖 (これがいわゆる岡崎フラグメントですが) が合成されます。岡崎フラグメントは 100-200 塩基くらいと言われていますから, やや不安定な結合であろうと考えられます。配列にパリンδροーム配列を有している場合, 合成されたラギング鎖が stem-loop 構造をとり, 同じ部位をもう一度複製する replication slippage が起きるとすると, tandem duplication をうまく説明できます。このモデルは, Leukemia. 1998 Sep;12(9):1333-7. で提唱しておりますので, ご一読下さい。
- 2) 犬の mast cell tumor で, c-KIT の ITD が報告さ

れています。しかしヒトでの例は知りません。

### 【質問】

- 1) 非ホジキンびまん性 B 細胞リンパ腫で, CHOP 治療 6 回, リツキサン 8 回, 放射線 28 グレイを受けた場合, 治療関連白血病の発症リスクはどのくらいあるのでしょうか。1 年前に治療終了し, 現在完全寛解状態です。
- 2) 治療関連白血病の発症を予防する方法はありますか。通常の「がん予防 12 か条」の他に何かありましたらご教示ください。
- 3) 白血病の発症を調べるのに DNA の分析をすることは有効でしょうか。転座があれば, 発症の確立を確定できるのでしょうか。

### 【回答】

- 1) ホジキンリンパ腫での報告では, 10 年累積発症率が MOPP 療法で 3%, ABVD 療法で 1% 未満と報告されていますが, お尋ねの非ホジキンリンパ腫あるいは CHOP 療法では詳細な検討がありません。おそらくこれらよりも低いと予想され, 大きな問題とはなっていません。
- 2) 放射線や抗がん剤によるフリーラジカルが遺伝子に傷を付けることがメカニズムとして考えられていますので, 抗酸化作用を持つ食品などは予防に良いかもしれません。もっと重要なことは, 長期予後が見込める悪性腫瘍では, 二次腫瘍も念頭に入れた治療法の選択が望ましいということです。
- 3) 白血病では様々な遺伝子の変異を起こして発症することがわかっていますが, どの遺伝子に異常が起こるのかは, 症例・疾患ごとに異なります。フォローアップなどで, 遺伝子検査は有効な場合がありますが, 発症での検査法はまだないのが現状です。

### 【質問】

- 1) PBSCT の治療ではなぜ stem cell は末血から骨髄に戻るのでしょうか。そして, stem cell の置き換えはどのようにして成立するのでしょうか。
- 2) 移植の年齢制限はなぜあるのでしょうか。



3) FAB分類と新 WHO 分類, どちらの分類にて BM での Blast 数 ( $\geq 20\%$ か $\geq 30\%$ )を白血化としてとらえたら良いのでしょうか。

4) MMの白血化は PCLと考えるとよいのでしょうか。

**【回答】**

1) stem cell は, 移植前処置 (放射線や大量抗がん剤), 移植後 GVHD 反応などで, 置き換えが成立するものと思います。末梢血の stem cell が骨髓に戻ることを homing といいます。骨髓内静脈洞の内皮と stem cell の接着, 骨髓から分泌される SDF-1 などのケモカインによる stem cell の遊走, 造血ニッチと stem cell の接着など, homing にはいくつかの過程が考えられます。現在精力的に研究が進められています。

2) 一口に言えば, 一定以上の年齢に対する造血幹細胞移植の成績がふるわないことにあります。移植が成功するためには, 患者が前治療に耐え, 造血幹細胞が速やかに生着・増殖し, 重篤な感染がなく, GVHD (急性・慢性) が軽度で, 免疫不全・日和見感染を起こさないことなどがが必要です。これらすべての過程にレシピエントの年齢が影響しますが, 中でも GVHD が最も大きな要因です。

3) 現在 WHO 分類により, AML と MDS の境は芽球 20% で分けるのが主流です。しかし, リンパ系腫瘍の白血病とリンパ腫の境界, あるいは leukemic change の定義については, 個別に, あるいは慎重に考える必要があると思います。

4) 診断時から骨髓腫細胞が  $2 \times 10^9/L$  以上あるいは末梢白血球の 20% 以上を占めた場合, Primary plasma cell leukemia (PCL) と診断します。一方, 骨髓腫の経過中にこの基準を満たせば, Secondary PCL と呼ぶことがあります。

**【質問】** スクレオホスミン (NPM-1) の変異が正常核型の AML 症例の 40% レベルで検出されるとい

うのは, 染色体 13 ~ 15 番, 21 ~ 22 番の 5 本の NOR (核小体形成前駆体) の何番染色体に関係するのでしょうか。あるいはすべての NOR が関連するのでしょうか。

**【回答】** スクレオホスミン (NPM) は, 通常核小体に局在しており, 核小体におけるリボゾーム RNA の生合成や中心体複製, p53 や Arf などの腫瘍抑制遺伝子の機能修飾, 細胞ストレスに対する抵抗作用と実に多彩な機能があると言われていています。リボゾーム RNA は rDNA 遺伝子リピート (ヒトでは 13, 14, 15, 21, 22 番染色体上にある) と呼ばれる遺伝子群から RNA ポリメラーゼ I によって転写されますので, NPM 変異が rRNA の転写に何か影響があるかもしれません。しかし, 研究は始まったばかりです。

**【質問】** 疾患により発現頻度に年齢差があるのはなぜでしょうか。

以前, 小児病院に勤務していましたが, ALL の頻度が非常に高く, Lymphoma はほとんど経験したことはありません。

**【回答】** 原因は不明ですが, ヒトの成長発達における造血・リンパ系組織の成熟・老化が関係するのかもしれませんが。一例を挙げると, リンパ系の前駆細胞プールが拡大する時期が小児リンパ性白血病好発年齢と重なると考えている研究者もいます。また胎児期から持っていた染色体転座クローンが, 感染やその他セカンドヒットがこの時期に起きることにより, 小児リンパ性白血病を発症すると考えている研究者もいます。年齢とともに罹患頻度が上昇する MDS や多発性骨髓腫では, 長期間にわたる遺伝子異常の蓄積が, 多段階に起きることが関与しているという考え方もあり, ご質問の“年齢と疾患”問題は, 我々研究者に多くのテーマを与えています。