

## T細胞リンパ腫に他の血液がんの薬剤が有望であることを発見

### 研究成果のポイント

1. 悪性リンパ腫のうち、濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫のゲノム異常<sup>※1)</sup>を模倣するモデルマウスを作製し、他の血液がんで使用されていた薬剤ダサチニブによる治療モデル実験によって、本薬剤が有望であることを示しました。
2. これに基づいて、代表的な濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫である血管免疫芽球性T細胞リンパ腫患者にダサチニブを投与する臨床試験を実施し、5例中4例で効果を確認しました。
3. これらの発見は、従来型の治療では治療が難しい一部の悪性リンパ腫の新たな治療法開発につながる成果です。

国立大学法人筑波大学医学医療系の千葉滋教授・坂田麻実子准教授らの共同研究グループは、これまでに、高齢者で発症頻度の高い特定の悪性リンパ腫(血管免疫芽球性T細胞リンパ腫(AITL)およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫)についてゲノム異常の解明を行ってきました。今回、こうしたゲノム異常を模倣するモデルマウスを作製、治療モデル実験を行い、他の血液がんで使用される薬剤ダサチニブが、AITLおよびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫の治療薬として有望であることを示しました。

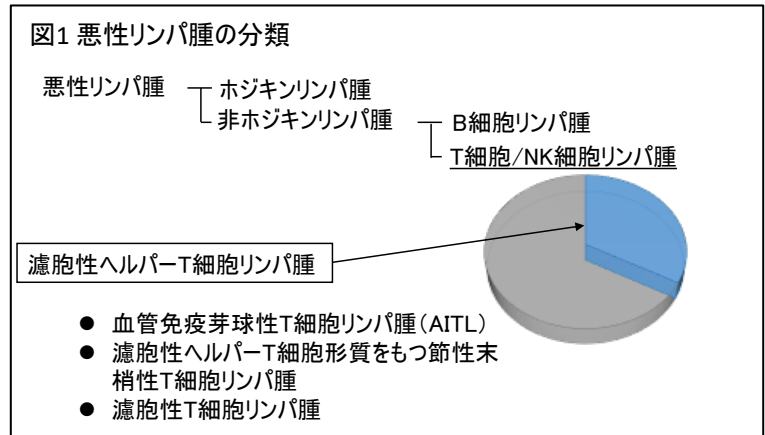
血液のがんである悪性リンパ腫は多数の亜型に分類され、それぞれに病因や最適な治療法が異なると考えられています。また亜型ごとに異なる遺伝子変異<sup>※2)</sup>が明らかにされつつあります。本研究グループは、悪性リンパ腫の約3%-5%に相当する「AITL およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫」の7割において、*RHOA* 遺伝子から作られるタンパク質の1カ所(17番目のアミノ酸)がグリシンからヴァリンに変異しており(G17V *RHOA* 変異)、さらにエピゲノム調節に関わる *TET2* 遺伝子に変異が生じていることを2014年に明らかにしました<sup>a)</sup>。その後、G17V変異によって生じた異常なタンパク質がT細胞受容体シグナル<sup>※3)</sup>を伝達する分子であるVAV1と結合し、VAV1の異常な活性化(リン酸化)を起こすことでT細胞受容体シグナルの活性化を起こすこと、既に他の血液がんに使われている薬(ダサチニブ)によって、一連の反応を抑えられることを、2017年に明らかにしました<sup>b)</sup>。今回の研究ではまず、AITL およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫のゲノム異常情報(G17V *RHOA* 変異と *TET2* 遺伝子変異)を模倣するマウスを作製し、本疾患のモデルとなる腫瘍を発症することを示しました。また、このマウスを利用してダサチニブによる治療モデル実験を行い、ダサチニブがAITL およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫の治療薬として有望であることがわかりました。これに基づいてAITL患者にダサチニブを投与する臨床試験を実施したところ、5例中4例で効果を確認しました。これらの結果を受けて、現在、国内多施設共同でダサチニブの効果調べる医師主導試験が始まっています。

本研究の成果は、2020年2月27日付「Cancer Research」誌で公開されました。

- \* 本研究は、日本学術振興会が助成する科学研究費補助金(基盤研究)「血管免疫芽球性T細胞リンパ腫の病態解明と診断・治療法開発をめざす統合的アプローチ」(研究期間:平成28~30年度)、および日本医療研究開発機構が助成する次世代がん医療創生研究事業・「血液がんにおける腫瘍細胞と微小環境との相互作用の分子メカニズムに基づく治療標的の照準化」(研究期間:平成28~33年度)などの研究資金によって実施されました。

## 研究の背景

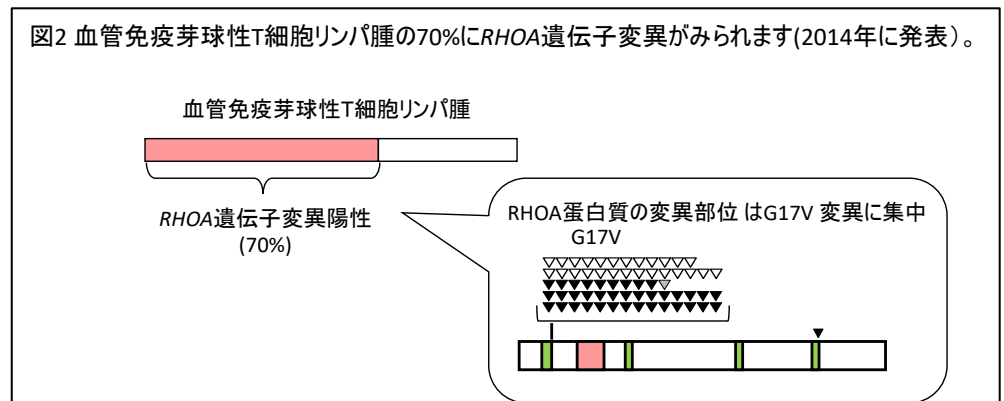
悪性リンパ腫はリンパ球の悪性腫瘍であり、白血病などとともに血液がんの一種です。悪性リンパ腫は病理学的に多数の亜型に分類されます。B細胞リンパ腫とT細胞/NK細胞リンパ腫に大別した場合の比率は、前者が85-90%で、後者が10-15%です。T細胞/NK細胞リンパ腫はさらに複数の亜型に分類されます。これらの亜型の割合は世界的に分布の偏りがありますが、平均すると約1/3(悪性リンパ腫全体の約3%-5%)は、「濾胞性ヘルパーT細胞」とよく似た遺伝子発現様式を示すもので、病理学的には血管免疫芽球性T細胞リンパ腫(AITL)、濾胞性ヘルパーT細胞形質を持つ節性末梢性T細胞リンパ腫、濾胞性末梢性T細胞リンパ腫のいずれかと診断される、比較的高齢者に多い疾患です(図1)。これら3種類はまとめて濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫と呼ばれることがあり、AITLがその代表であることから、ここでは「AITL およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫」と表現します。



血液がんでは固形がんにも増してゲノム解析が進展しており、悪性リンパ腫も亜型ごとにゲノム異常の様子が明らかになりつつあります。今後はさらに、患者ごとの治療法開発が可能となる「プレジジョン・メディシン<sup>注4)</sup>」が進展すると期待されています。

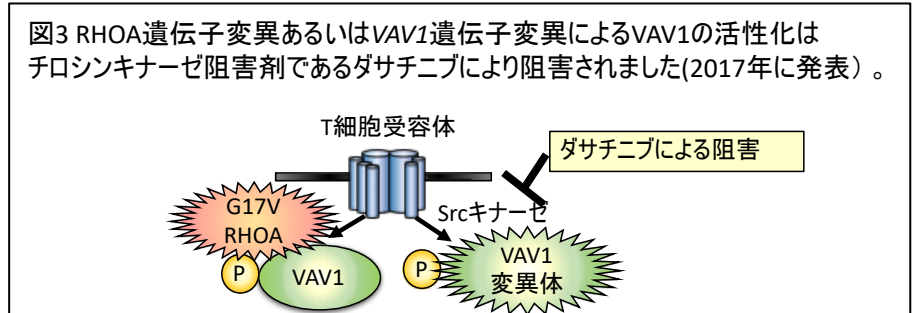
2014年に本研究グループは、AITL およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫のゲノム解析を行い、本疾患の70%では *RHOA* 遺伝子の変異によって、同遺伝子が合成を指定(コード)しているタンパク質の1カ所(17番目のアミノ酸)で、グリシンがヴァリンに変異していること(G17V *RHOA* 変異)をつきとめました(図2)。一方、B細胞リンパ腫や、リンパ球以外の

血液のがんからは、G17V *RHOA* 変異は全く検出できないことから、G17V *RHOA* 変異を、AITL およびその他の濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫の診断に有用な遺伝子診断のツールとして開発を進めました。



その後2017年には、G17V *RHOA* 変異遺伝子が合成する異常なRHOAタンパク質(G17V *RHOA* 変異体)と結合するタンパク質を網羅的に解析し、T細胞受容体シグナルを伝達するVAV1タンパク質を見つけました(図3)。G17V *RHOA* 変異体とVAV1タンパク質とが結合すると、VAV1の活性化(リン酸化)が見られました。また、G17V *RHOA* 変異が陰性の症例の一部では、VAV1遺伝子自体に活性化変異が見られました。

VAV1タンパク質のリン酸化はLCKやFYNなどのチロシンキナーゼが担うと考えられています。一方、これらのチロシンキナーゼは、現在、臨床現場でフィラデ



ルフィア染色体<sup>注5)</sup>を持つ白血病の治療薬として広く使われている(悪性リンパ腫の治療薬ではない)ダサチニブというチロシンキナーゼ阻害薬<sup>注6)</sup>の良い標的であることがわかっています。そこでダサチニブを用いたところ、G17V RHOA 変異体による、あるいは VAV1 自身の変異による VAV1 活性化および下流シグナルの活性化が阻害されました(図 3)。

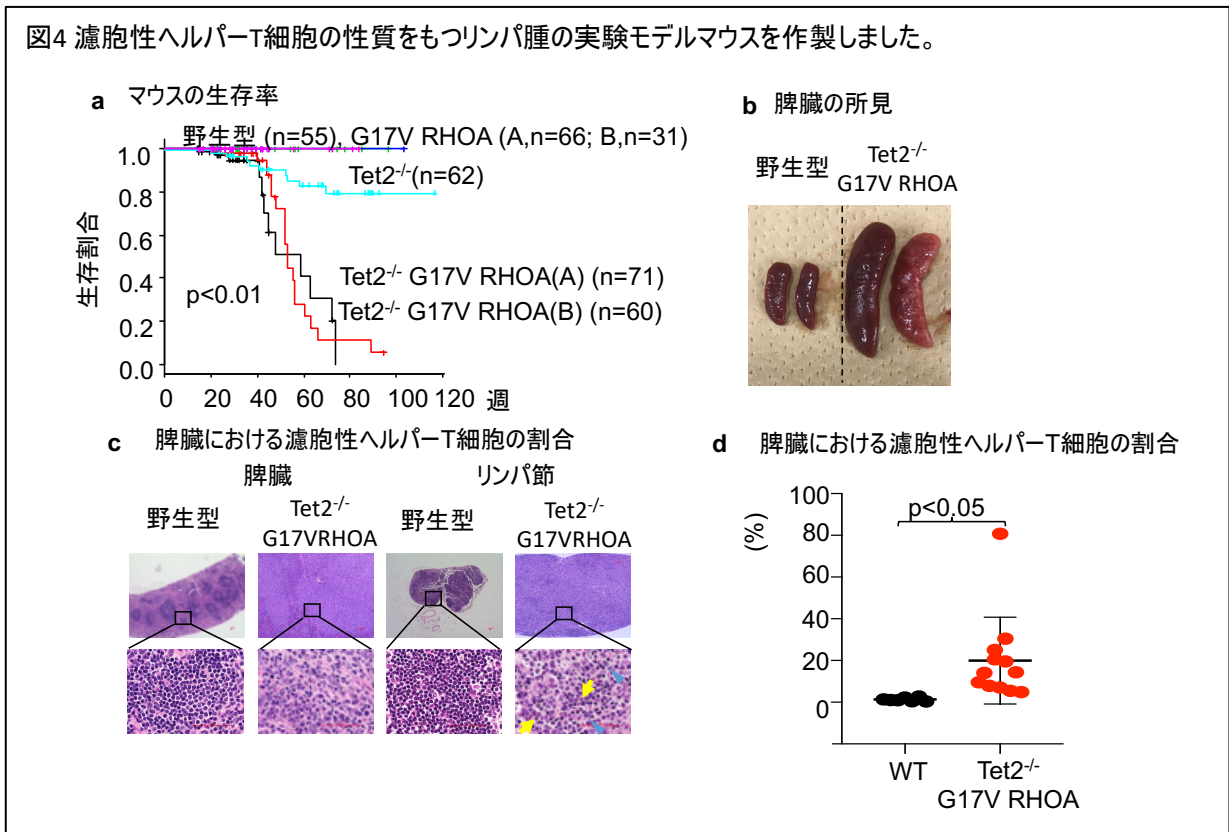
これらの結果から、ダサチニブが濾胞性ヘルパーT 細胞の性質を持つリンパ腫の治療薬として有望であることが期待されましたが、実際の生体での効果は明らかではありませんでした。

**研究内容と成果**

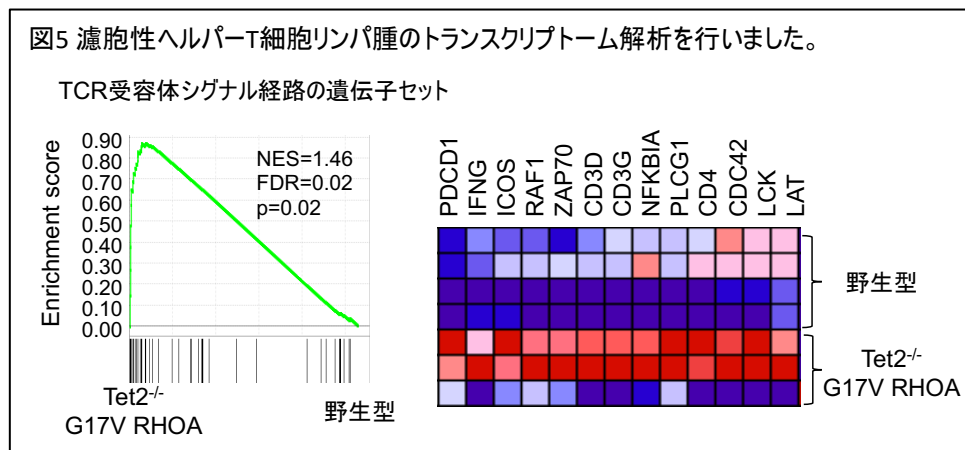
**1. 濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫の実験モデルマウスの作製**

まず、ヒト G17V RHOA 変異体をコードする cDNA を、ヒト CD2 遺伝子上流遺伝子調節領域および遺伝子座制御領域を含む VA カセットに挿入し、このカセットを C57BL/6 マウスの受精卵に注入して、トランスジェニックマウスを作製しました(G17V RHOA マウス)。次に Tet2 遺伝子が条件依存的に破壊されるマウス(Tet2 flox/flox)、Mx-Cre マウス、および G17V RHOA トランスジェニックマウスを交配させて、Mx-Cre x Tet2 flox/flox x G17V RHOA マウスを作製しました。さらに、ポリイノシン-ポリシチジル酸(pl:pC)を腹腔内注射して Tet2 遺伝子破壊を誘導することにより、Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスを作製し、解析しました。

その結果、Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスは野生型マウスより早期に死亡し(図 4a)、脾腫およびリンパ節腫大を伴っていました(図 4b)。脾臓およびリンパ節の組織切片の観察では、脾臓およびリンパ節の濾胞構造は破壊され、中型から小型リンパ球が浸潤していました(図 4c; Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスでは、脾臓の構造やリンパ節の濾胞構造が破壊されています。黄矢印は好酸球、水色の矢じりは免疫芽球を示します。これらの細胞浸潤は AITL の病理学的特徴です)。また脾臓では、CD4+ICOS+PD1+の細胞表面形質を持つ濾胞性ヘルパーT 細胞様の細胞の割合が増加していました(図 4d)。臓器浸潤の所見なども加えると、Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスは、濾胞性ヘルパーT 細胞リンパ腫のモデルマウスであると考えられました。

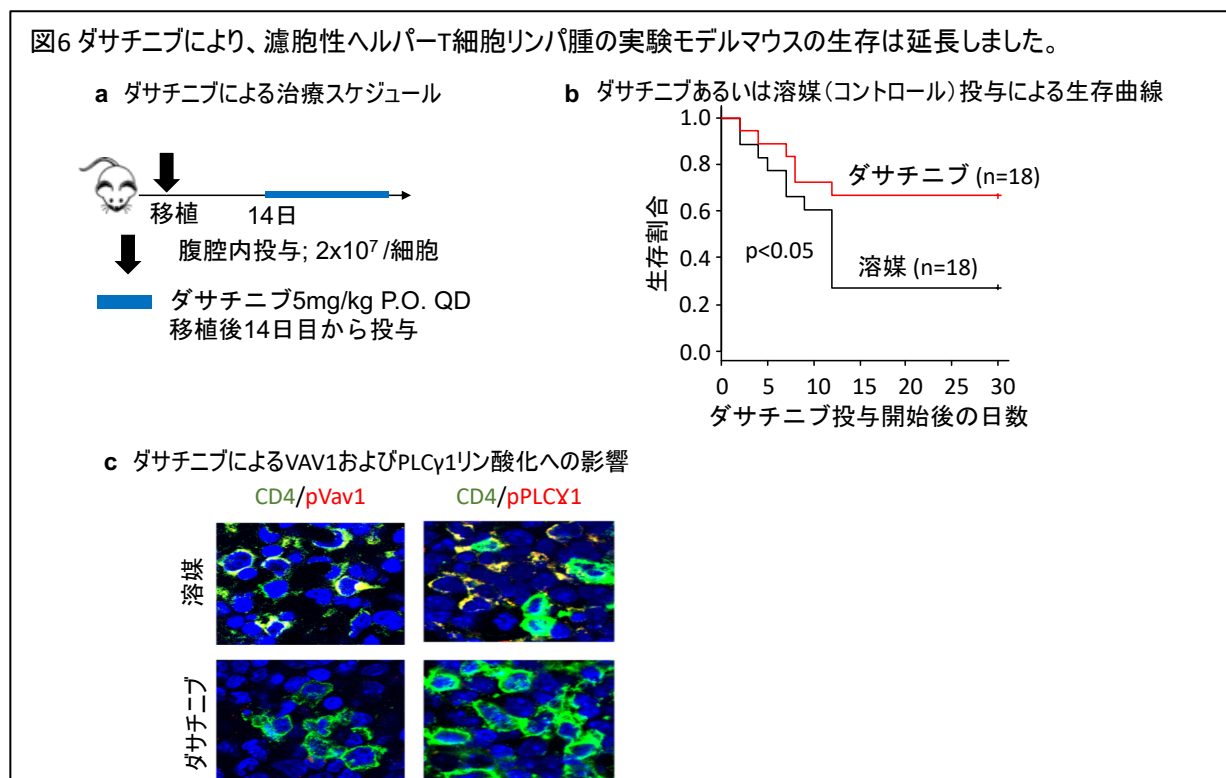


さらに、Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスの腫大した脾臓から CD4 陽性細胞を分取し、野生型マウスの脾臓から分取した CD4 陽性細胞とともにトランスクリプトーム解析<sup>注7)</sup>を行ったところ、Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスの CD4 陽性細胞では、T 細胞受容体シグナル経路の活性化を認めました(図 5)。



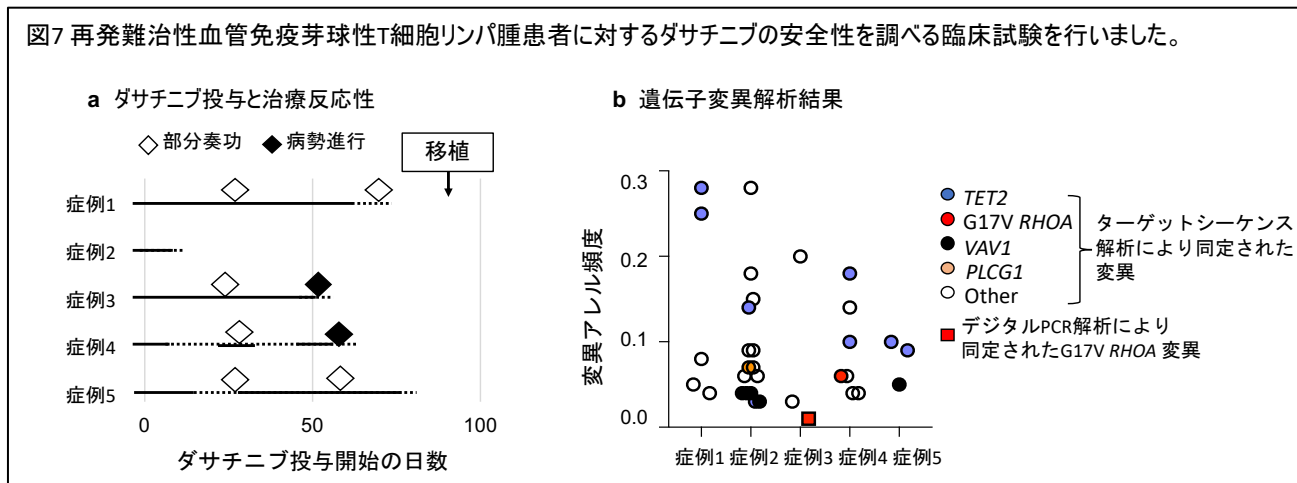
## 2. ダサチニブにより、濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫の実験モデルマウスの生存が延長

Tet2<sup>-/-</sup> G17V RHOA マウスのリンパ腫組織から細胞懸濁液を調整し、免疫不全マウスに移植しました。この系では、移植後3～4週後に濾胞性ヘルパーT細胞リンパ腫を発症し、免疫不全マウスは死亡します。移植後14日目からダサチニブ5mg/kgを内服させると生存が延長しました(図6a,b)(図6aのP.O.は経口投与、QDは毎日1回投与を意味)。脾臓のサイズや脾臓中のCD4陽性細胞の割合も低下していました。また、移植後9日目にダサチニブを内服させ、3時間後にVAV1リン酸化やこれのパートナー分子であるPLC $\gamma$ 1リン酸化の程度を調べたところ、ダサチニブ群ではコントロール群に比較してVAV1やPLC $\gamma$ 1リン酸化の程度は減少(活性化が阻害)していました(図6c;青は核を、緑はCD4陽性細胞を、黄色はリン酸化VAV1あるいはリン酸化PLC $\gamma$ 1が検出されるCD4陽性細胞を示します。ダサチニブ投与群では黄色が見られず、生体内でダサチニブによりVAV1あるいはPLC $\gamma$ 1のリン酸化が抑制されることを意味しています)。



### 3. 再発難治性血管免疫芽球性T細胞リンパ腫に対するダサチニブの安全性を調べる臨床研究を実施

マウスモデルに対してダサチニブ投与することにより、生存を延長する効果が見られたことから、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫の患者5名を対象にダサチニブの安全性を確かめるフェーズⅠ臨床研究を行いました(図7a)。ダサチニブは1日1回100mgの内服で、10-78日間(中央値58日間)継続されました。ダサチニブの安全性の検討では、1名でグレード3の末梢神経障害により投与を中止しました。この患者を含め、評価可能であった4人では部分寛解を達成しました。



また、患者から得られた生検検体を用いて、434遺伝子<sup>注8)</sup>領域に対する遺伝子変異解析を行ったところ(図7b)、それぞれ2つの異なるTET2遺伝子変異を4人由来の検体で認めました(症例1、2、4、5)。G17V RHOA変異は2人(症例3、4)由来の検体で、VAV1遺伝子変異を2人由来の検体で認めました(症例2、5)。症例5では、VAV1遺伝子領域のtandem duplication(縦列重複)も認めました。

#### 今後の展開

今回の発見は、悪性リンパ腫に特異的なゲノム異常によって活性化する、異常なシグナルを遮断する治療が生体内でも有効であり、実際に安全に投与できることを示しています。この結果を受けて、現在、国内多施設共同でダサチニブの効果を調べる医師主導治験を開始しています。この臨床試験では、ゲノム異常のパターンや発現パターンなどから、ダサチニブが有効な患者群を抽出できるかも調べる計画です。

#### 用語解説

注1) ゲノム異常

染色体上のDNAの構造や塩基配列に変化があること。

注2) 遺伝子変異

タンパク質のアミノ酸配列あるいは非翻訳RNAの塩基配列を決定するDNAの塩基配列に変化があること。

注3) T細胞受容体シグナル

T細胞の細胞膜上に発現するT細胞受容体複合体が刺激されることにより、細胞内に伝達される一連のシグナル。

注4) プレジジョン・メディスン

患者一人ひとりの病気の性質を特定し、これにあった最適な治療方法を施すこと。

注5) フィラデルフィア染色体

9番染色体と22番染色体の一部が相互に入れ替わった(相互転座した)染色体。それぞれの切り口にあるBCR遺伝子とABL1遺伝子が融合し、異常なBCR-ABLタンパク質を生じる。

#### 注6) チロシンキナーゼ阻害剤

シグナル伝達に関わるチロシン残基のリン酸化酵素(キナーゼ)を阻害する薬剤。

#### 注7) トランスクリプトーム解析

細胞のメッセンジャーRNA の網羅的な解析。

#### 注8)434 遺伝子変異解析

さまざまな血液腫瘍で変異やその他の異常が同定されている遺伝子を抽出して作成した遺伝子パネルを用いて行う変異解析。ゲノム異常を網羅的に解析する方法としては、全ゲノム解析や全エクソン解析などの方法があり、これらに比べると網羅性は低いが、より安価に多数の検体でゲノム異常を広く検出する方法として用いられる。固形がんでは、同様の方法で行われる遺伝子パネル検査が保険でカバーされるようになっている。ここに記載されている遺伝子変異は、AITL およびその他の濾胞性ヘルパーT 細胞リンパ腫で高頻度に同定されるものである。

#### 参考文献

- a) Mamiko Sakata-Yanagimoto et al., Somatic *RHOA* mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma.  
(血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫における RHOA 遺伝子変異)  
Nature Genetics 誌 2014 Feb;46(2):171-5.
- b) Manabu Fujisawa, Mamiko Sakata-Yanagimoto et al., Activation of RHOA-VAV1 signaling in angioimmunoblastic T-cell lymphoma  
(血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫における RHOA-VAV1 シグナルの活性化)  
Leukemia 誌 2018 Mar;32(3):694-702.

#### 掲載論文

【題名】 Dasatinib is an effective treatment for angioimmunoblastic T-cell lymphoma  
(ダサチニブは血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫に対して有効である)

【著者名】 Tran B. Nguyen<sup>1+</sup>, Mamiko Sakata-Yanagimoto<sup>1,2+\*</sup>, Manabu Fujisawa<sup>3</sup>, Sharna Tanzima Nuhath<sup>3</sup>, Hiroaki Miyoshi<sup>4</sup>, Yasuhito Nannya<sup>5</sup>, Koichi Hashimoto<sup>6</sup>, Kota Fukumoto<sup>3</sup>, Olivier A. Bernard<sup>7</sup>, Yusuke Kiyoki<sup>2</sup>, Kantaro Ishitsuka<sup>2</sup>, Haruka Momose<sup>2</sup>, Shinichiro Sukegawa<sup>2</sup>, Atsushi Shinagawa<sup>8</sup>, Takuya Suyama<sup>8</sup>, Yuji Sato<sup>9</sup>, Hidekazu Nishikii<sup>1,2</sup>, Naoshi Obara<sup>1,2</sup>, Manabu Kusakabe<sup>1,2</sup>, Shintaro Yanagimoto<sup>10</sup>, Seishi Ogawa<sup>5</sup>, Koichi Ohshima<sup>4</sup>, and Shigeru Chiba<sup>1,2,11\*</sup>

1. Department of Hematology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8575, Japan.
2. Department of Hematology, University of Tsukuba Hospital, 2-1-1 Amakubo, Tsukuba, Ibaraki 305-8576, Japan.
3. Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8575, Japan.
4. Department of Pathology, Kurume University, School of Medicine, 67 Asahi, Kurume, Fukuoka 830-0011, Japan.
5. Department of Pathology and Tumor Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Yoshida-Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan.
6. Tsukuba Clinical Research and Development Organization, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8575, Japan.
7. INSERM U1170, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Equipe Labellisée Ligue Nationale Contre le Cancer, Villejuif, France.
8. Department of Hematology, Hitachi General Hospital, 2-1-1 Jonan-cho, Hitachi, Ibaraki 317-0077, Japan.
9. Department of Hematology, Tsukuba Memorial Hospital, 1187-299 Kaname, Tsukuba, Ibaraki 300-2622, Japan.
10. Division for Health Service Promotion, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan.
11. Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8575, Japan.

+ These authors contributed equally.

\* Corresponding authors

【掲載誌】 Cancer Research 誌 (DOI: 10.1158/008-5472.CAN-19-2787)

問合わせ先

千葉 滋(ちば しげる)

筑波大学 医学医療系(血液内科) 教授

坂田(柳元)麻実子 (さかた やなぎもと まみこ)

筑波大学 医学医療系(血液内科) 准教授