

クローン性造血からがんに進展するメカニズムを解明 ～新しい治療アプローチの発見～

加齢に伴い、血液を作り出す元となっている造血幹細胞は、再発性の遺伝子異常を持つ造血幹細胞に置き換わります（クローン性造血）。このクローン性造血は、血液がんだけでなく、固形がんや生活習慣病といった多くの病気の素地となることが明らかとなっています。本研究チームは、このクローン性造血からがんに進展するメカニズムを、クローン性造血のゲノム異常を模倣するマウスモデルを用いた基礎実験と、単一細胞レベルでの遺伝子発現解析を始めとするデータ解析との融合により、明らかにしました。

血液がんである悪性リンパ腫の一つ、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫のゲノム異常を模倣したマウスモデルによる解析により、がん組織内において、通常の免疫応答では見られない異常な発現プロファイルを持つ胚中心 B 細胞が増加していることが分かりました。この異常な胚中心 B 細胞は、独自の遺伝子異常を獲得し、クローン性に進化していました。

また、単一細胞レベルでの遺伝子発現解析のデータを用いた解析からは、この胚中心 B 細胞とがん細胞の相互作用が、それぞれが持つタンパク質 CD40 と CD40LG との間で行われることが明らかとなりました。さらに、この CD40-CD40LG 経路を阻害する治療によって、がんそのものの増殖を抑えることができることを発見しました。

本研究結果は、がん微小環境細胞とがん細胞のネットワークを阻害するという新しい治療法を提案するものであり、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫のような、治療法が確立されていない希少がんの治療に役立つものと考えられます。

研究代表者

筑波大学医学医療系

千葉 滋 教授

坂田（柳元） 麻実子 教授

研究の背景

ヒトの体内の血液を作り出す元である造血幹細胞^{注1)}は、加齢に伴い、再発性の遺伝子変異を持つ異常な造血幹細胞へと置き換わります(クローン性造血)。このクローン性造血は、血液がだけでなく、固形がん、さらには生活習慣病といった様々な病気の素地となることが、近年、明らかとなっています。しかしながら、クローン性造血に由来する血液細胞がどのようにがんの進展に関わっているのかということは、未だ明らかになっていません。

今回、本研究グループは、クローン性造血が原因となる悪性リンパ腫の亜型の一つである血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫^{注2)}の発症メカニズム(図 1)の解明に取り組みました。本研究グループは、これまでに、ヒトの検体において、がん細胞においてクローン性造血のうち最も高頻度に見られる遺伝子変異である機能喪失型 *TET2* 変異^{注3)}と、疾患特異的な遺伝子変異である G17V *RHOA* 変異^{注4)}が共に認められること、また、がん細胞の周囲に存在するがん微小環境^{注5)}細胞においても *TET2* 変異が認められることを明らかにしています。そこで、これらの知見に基づいて、Tet2 欠失と G17V *RHOA* 変異を組み合わせたマウスモデルを独自に樹立し、研究を行いました(図 2)。その結果、がん組織内に浸潤するクローン性造血由来の特定の種類の血液細胞が、がん細胞の増殖に強く関わっており、そのような異常ながん微小環境細胞と「がん細胞」との相互作用を阻害することで、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫自体の増殖を抑制できることを発見しました。

研究内容と成果

1. Tet2 欠失と G17V *RHOA* 変異の共存する二つのマウスモデルの樹立

まず、クローン性造血を模倣するマウス(図 2A 赤字部分:血液細胞全体で Tet2 欠失+がん細胞で G17V *RHOA* 変異、マウス X)と、がん細胞でのみ二つの異常が共存するマウス(図 2A 青字部分:がん細胞で Tet2 欠失+がん細胞で G17V *RHOA* 変異、マウス Y)を作製し、観察を行いました。血液細胞全体で Tet2 欠失を持つマウス X では、生後 40 週以降で、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫を発症する一方で、マウス Y では、観察期間中にそのような変化は見られませんでした(図 2B)。また、がん発症マウスから分取した血液細胞画分を移植した実験では、がん細胞に加えて B 細胞(リンパ球の一種)を加えた群で有意に血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫の発症が見られた(図 2C)ことから、クローン性造血由来のがん微小環境細胞のうち、特に B 細胞が、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫の発症に寄与していると考えられました。

2. がん微小環境でクローン性に変化している異常な胚中心 B 細胞の同定

シングルセル RNA シーケンス解析^{注6)}とその発現プロファイルを元に行ったフローサイトメトリー解析^{注7)}から、胚中心 B 細胞^{注8)}の特徴を持つ細胞が、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫のがん組織内で増加していることが分かりました(図 3A-B)。そこで、この胚中心 B 細胞の特徴を明らかにするために、マルチオミクス解析^{注9)}を行なったところ、この胚中心 B 細胞は、①恒常的な胚中心内に見られる暗帯と明帯の両方の特徴を有している(図 3B)、②B 細胞受容体遺伝子発現のレパートリーが著しく少なくなり、クローン性の濃縮がみられる(図 3C)、③同一がん組織内のがん細胞と比較して新規の遺伝子変異を多く獲得している(図 3D)、④野生型の胚中心 B 細胞と比較して高メチル化遺伝子(遺伝子発現を抑制する)が多く認められる(図 3E)、ということが明らかになりました。

3. B 細胞とがん細胞の相互作用を阻害すると血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫発症マウスの生存が延長

がん組織内における異常な胚中心 B 細胞とがん細胞の相互作用経路を明らかにするために、シングルセル解析のデータからインシリコ^{注10)}にネットワーク解析(図 4A)を行ったところ、胚中心 B 細胞が持つタンパク質 CD40 とがん細胞が持つタンパク質 CD40LG との相互作用が抽出されました。蛍光免疫染色では、がん発症組織の濾胞構造が崩れ、CD40LG 陽性のがん細胞と CD40 陽性の胚中心 B 細胞ががん

組織全体に広がって増殖していることが観察されました (図 4B)。さらに、CD40LG 阻害抗体を投与すると、がん細胞の増殖が抑制され、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫発症マウスの生存が延長する (図 4C) ことが明らかになりました。以上より、クローン性造血由来の胚中心 B 細胞は、CD40-CD40LG の相互作用を介して、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫の発症に寄与していることが分かりました (図 4C)。

今後の展開

本研究成果は、血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫を始めとする、治療法が確立されていない希少がんの治療に寄与すると考えられます。また、クローン性造血を背景に持つ他の固形がんなどの病態理解への応用も期待できます。今後さらに、がん組織内における血液細胞だけでなく非血液細胞も含めたがん微小環境の全容を明らかにし、そのネットワークを阻害することで、がん自体の増殖を抑える、新しい治療法の開発を目指します。

参考図

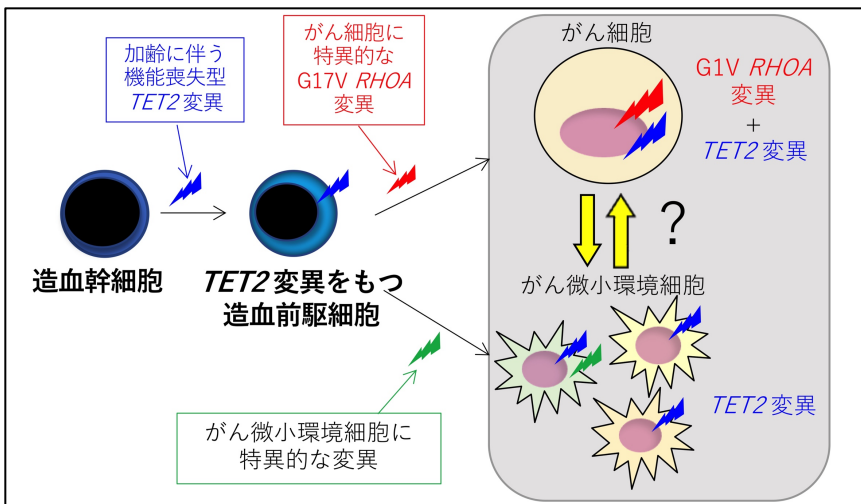


図1 クローン性造血に基づく血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫の発症機序

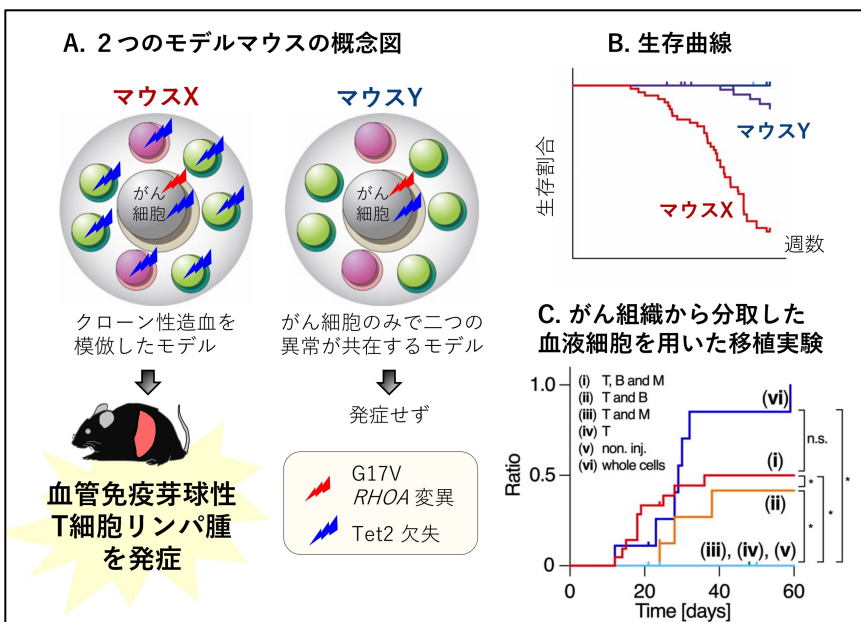


図2 Tet2 欠失と G17V RHOA 変異の共存するマウスモデルの樹立

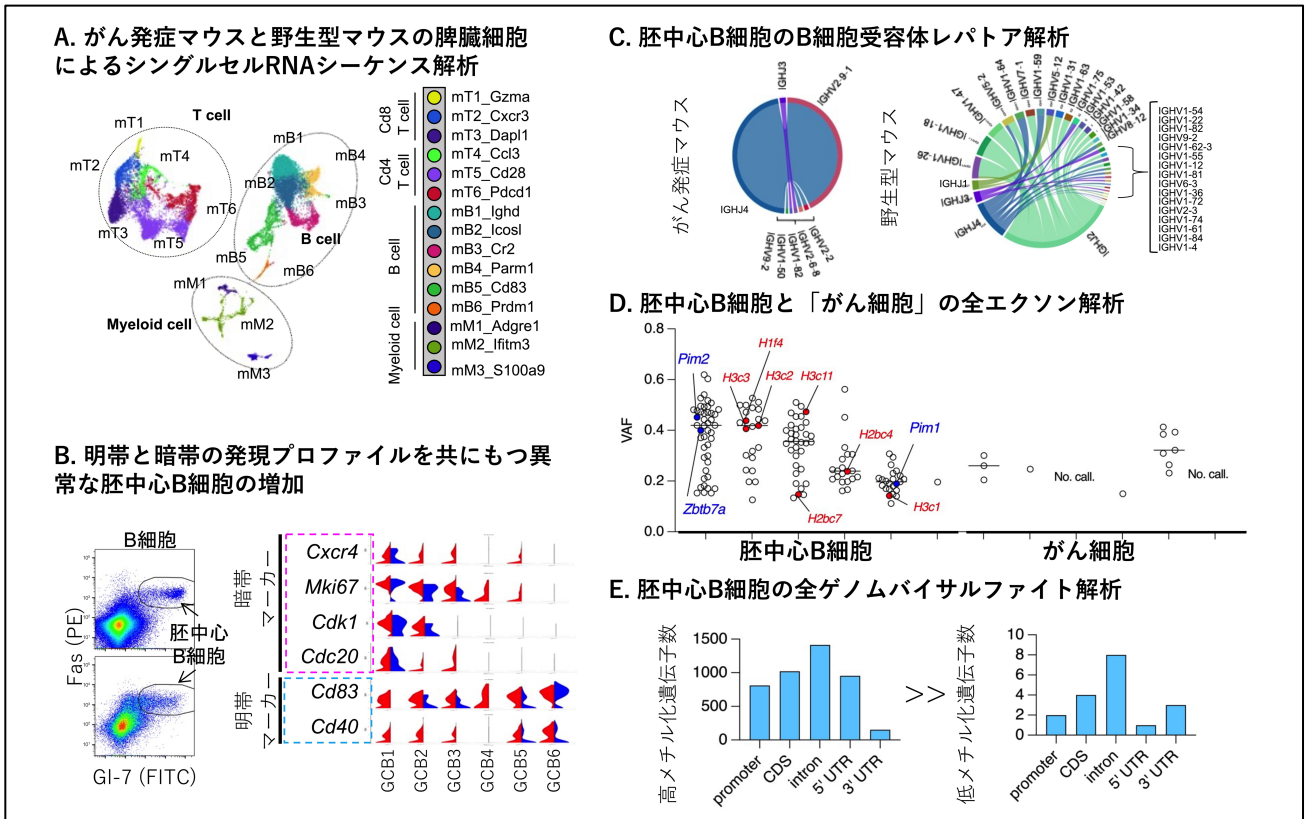


図3 がん微小環境でクローン性に拡大している異常な胚中心B細胞

A. がん発症マウスと野生型マウスの脾臓細胞から作製したシングルセル RNA シーケンス解析用ライブラリの統合されたデータによる次元圧縮図 (UMAP)。 B. がん発症マウスの脾臓で増加している暗帯と明帯の発現プロファイルを共にもつ異常胚中心 B 細胞。 C. がん発症マウスと野生型マウスの脾臓から分取された胚中心 B 細胞における B 細胞受容体レパトア解析^{注11)}。 D. がん発症マウスの脾臓から分取された胚中心 B 細胞とがん細胞の全エクソン解析^{注12)}。 E. がん発症マウスと野生型マウスの脾臓から分取された胚中心 B 細胞における全ゲノムバイサルファイト解析^{注13)}。

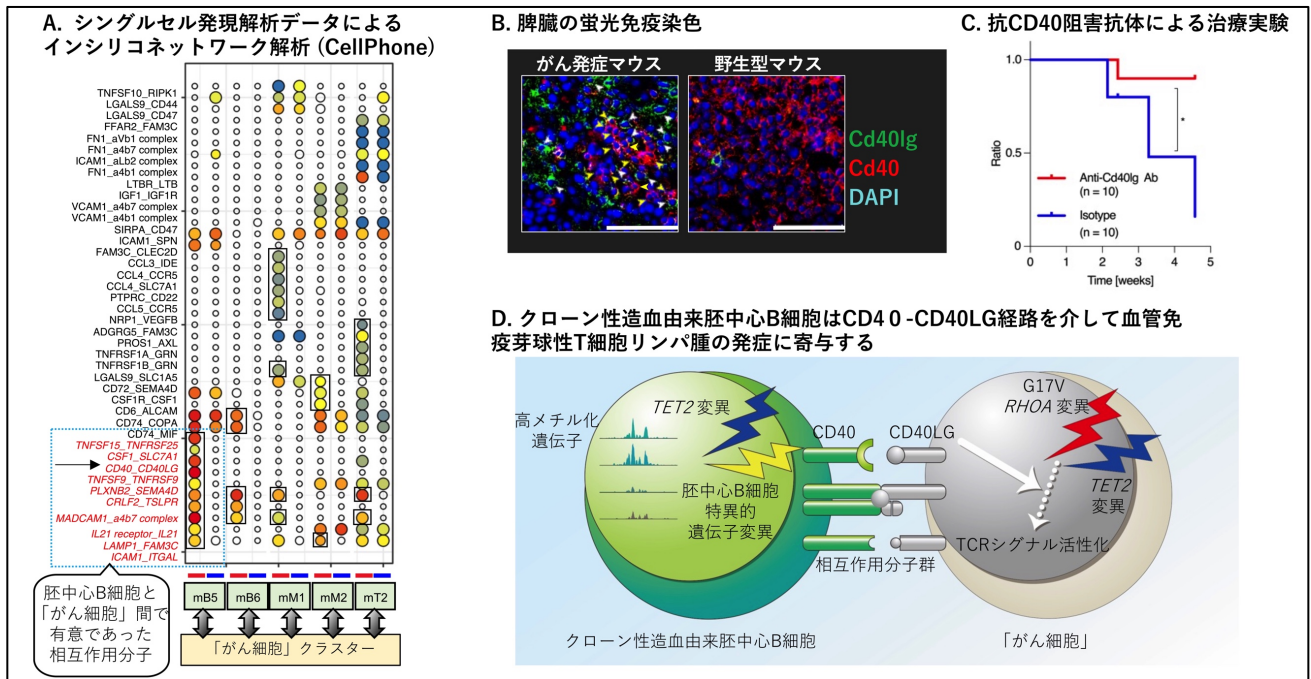


図 4 CD40-CD40LG 経路の阻害により血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫発症マウスの生存が延長

用語解説

注 1) 造血幹細胞

骨髄の中で血液細胞（赤血球、白血球、血小板）を作り出す元になっている細胞。

注 2) 血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫

悪性リンパ腫のうち末梢性 T 細胞リンパ腫の亜型の一つ。がん細胞は T 濾胞ヘルパー細胞の特徴を持つ。

注 3) 機能喪失型 *TET2* 変異

TET2 遺伝子にコードされるタンパクの機能（メチル化シトシンをヒドロキシル化シトシンに変化する）が失われる遺伝子変異。クローン性造血で高頻度に認められる。

注 4) G17V *RHOA* 変異

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）がグリシンとヴァリンに置換する変異。血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫に疾患特異的に見られる。

注 5) がん微小環境

がん組織の中で、がん細胞とその周囲の細胞から構成されるがん特異的な局所的環境。

注 6) シングルセル RNA シーケンス解析

次世代シーケンサーを用いて、一つひとつの細胞が個々に保持しているメッセンジャーRNA の発現量を網羅的に調べる方法。近年急速に進歩している先端的解析技術。

注 7) フローサイトメトリー解析

細胞の懸濁液をレーザーを用いて細胞が一行に流れる状態にし、計数、選別、および特性を解析するための技術。

注 8) 胚中心 B 細胞

免疫応答の際に形成される微小構造である胚中心内部に存在し、免疫グロブリン遺伝子の変換と体細胞高頻度突然変異に伴って、活発な増殖を繰り返す部分（暗帯）と様々な抗原提示細胞と介合することでメモリー B 細胞や形質細胞へと成熟する部分（明帯）に分かれる。

注9) マルチオミクス解析

一つのサンプルから、複数の物質を一括して分析する手法。「ミクス」は網羅的解析を意味する。

注10) インシリコ

「コンピューター（シリコン）の中で」という意味で、あらかじめデータ入力された情報によって、コンピュータ上で仮想的に実験を行う手法。

注11) B細胞受容体遺伝子レポトア解析

B細胞の抗原受容体（BCR）を構成する遺伝子ペアのレポトリーを解析する手法。

注12) 全エクソン解析

ゲノムからエクソン部分（タンパク質がコードされている部分）を濃縮し、塩基配列を決定する手法。

注13) 全ゲノムバイサルファイト解析

シーケンス解析前に、DNAを重亜硫酸ナトリウムで処理することにより、メチル化シトシンを検出する手法。

研究資金

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）革新的がん医療実用化研究事業（領域1）、AMED次世代がん医療創生研究開発事業（領域E）、日本学術振興会科学研究費助成事業、創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）、日本新薬公募研究助成、MSD生命科学財団、持田記念医学薬学振興財団、細胞科学研究財団、高松宮妃癌研究基金、内藤記念科学振興財団、小林がん学術振興会からの支援を受けて、東京大学、九州大学、東海大学、亀田総合病院、NTT東日本 関東病院との共同研究として行われました。

掲載論文

【題名】 Clonal germinal center B cells function as a niche for T-cell lymphoma

（クローン性胚中心B細胞はT細胞リンパ腫のニッチとして機能する）

【著者名】 藤澤学¹, Tran B. Nguyen¹, 安部佳亮², 末原泰人³, 福本浩太^{1,3}, 須摩桜子², 榎島健一², 金子千尋¹, Yen T. M. Nguyen¹, 白杵憲祐⁴, 成田健太郎⁵, 末永孝生⁵, 中村直哉⁶, 石川俊平⁷, 三浦史仁⁸, 伊藤隆司⁸, 鈴木絢子⁹, 鈴木穰⁹, 水野聖哉¹⁰, 高橋智¹⁰, 千葉滋^{1,3*}, 坂田（柳元）麻実子^{1,3,11*}

1 国立大学法人筑波大学医学医療系 血液内科.

2 筑波大学人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 血液内科研究室.

3 筑波大学附属病院 血液内科.

4 NTT 東日本関東病院 血液内科.

5 亀田総合病院 血液・腫瘍内科.

6 東海大学医学部 病理診断学.

7 東京大学大学院医学系研究科 衛生学分野.

8 九州大学大学院医学研究院 医科学分野.

9 東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻.

10 筑波大学トランスポーター医学研究センター 生命科学動物資源センター.

11 筑波大学トランスポーター医学研究センター 先端血液腫瘍学.

* 共同責任著者

【掲載誌】 Blood

【掲載日】 2022年8月3日

【DOI】 10.1182/blood.2022015451

問合わせ先

【研究に関すること】

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） 教授

URL: <http://www.ketsunai.com>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp