

特定の悪性リンパ腫を引き起こす発がんメカニズムの発見

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 細胞の性質をもつリンパ腫」と分類される疾患において、VAV1 遺伝子の異常な活性化が、発症に関わることを明らかにしました。
2. 既に他の血液がんに使われている薬によって、RHOA 変異体による VAV1 タンパク質活性化を抑えられることがわかりました。
3. これらの発見は、従来型の治療で根治が困難であった一部の悪性リンパ腫の治療開発につながると期待されます。

国立大学法人筑波大学(以下、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、特定の悪性リンパ腫で見られるRHOA遺伝子変異*1による異常なタンパク質がVAV1タンパク質と結合すること、これによりT細胞受容体シグナルを異常に活性化することを発見しました。

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、予後や治療法も異なります。したがって、どの亜型かを早期に診断することが、効果的な治療を施す上で重要です。病因の解明と関連して、一部の亜型ではゲノム異常(遺伝子変異)の解明が進みつつあります。本研究グループは2014年に、高齢者で発症頻度が高く、悪性リンパ腫の約5%に相当する「濾胞性ヘルパーT細胞の性質をもつリンパ腫」では、極めて高頻度に、RHOA 遺伝子が合成を指定しているタンパク質の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いること(G17V RHOA 変異)を明らかにしました。

今回の研究ではさらに、G17V RHOA 変異によって生じた異常な RHOA タンパク質が T 細胞受容体シグナル*2を伝達する分子である VAV1 タンパク質と結合し、VAV1 タンパク質の異常な活性化(リン酸化)を起こすことがわかりました。また、G17V RHOA 変異がない場合の一部の場合では、VAV1 遺伝子に異常があり、VAV1 タンパク質の活性化を自己抑制する仕組みが壊れて異常な活性化がおきていることがわかりました。VAV1 タンパク質の活性化は、T 細胞受容体シグナルの活性化を起こし、これは他の血液がんで使用されているチロシンキナーゼ阻害剤*3により阻害されました。

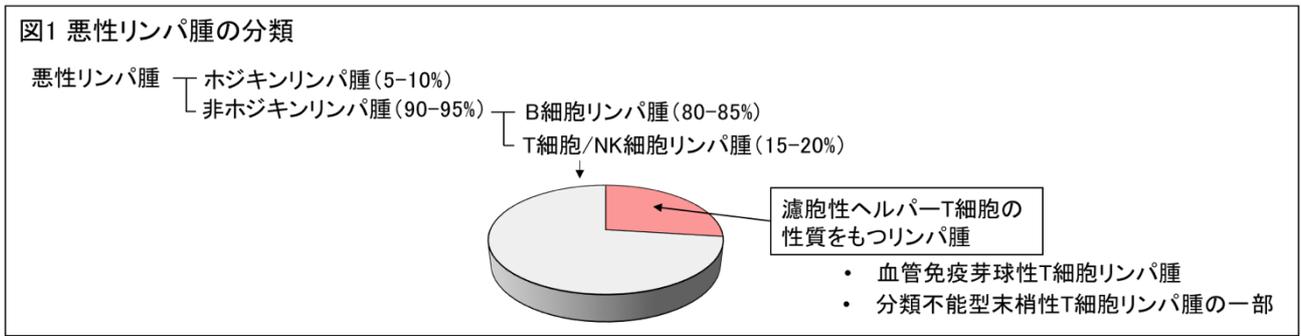
以上の発見から、これまで治療が困難だった悪性リンパ腫の一部について、特異的なゲノム異常に基づく新規治療方法の創出が期待されます。

本研究の成果は、2017年8月24日付「Leukemia誌」で公開される予定です。

* 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28~30年度)によって実施されました。

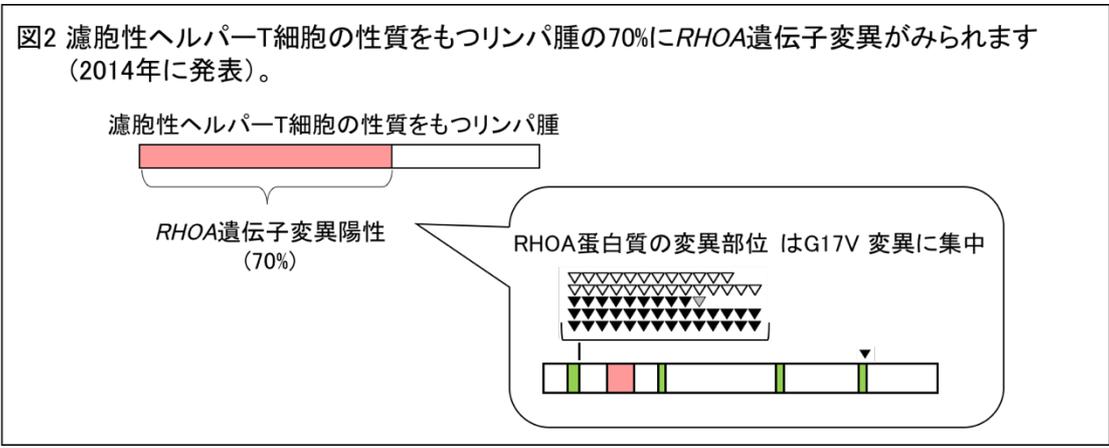
研究の背景

悪性リンパ腫はリンパ球の悪性腫瘍(がん)であり、白血病などとともに血液のがんともいわれます。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80-85%で、後者が15-20%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。それら亜型のうちの約1/3(悪性リンパ腫全体の約5%)は、「濾胞性ヘルパーT細胞の性質を持つリンパ腫」と分類されるもので、病理学的には血管免疫芽球性T細胞リンパ腫、あるいは分類不能型末梢性T細胞リンパ腫と診断される、比較的高齢者に多い疾患です(図1)。



悪性リンパ腫をはじめとする血液がんでは、ゲノム解析が進展しており、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。これによって、疾患ごとの治療法の開発が可能となる「プレジジョン・メディシン」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、濾胞性ヘルパーT細胞の性質をもつリンパ腫のゲノム解析の結果、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、*G17V RHOA* 変異は、B細胞リンパ腫や、リンパ球以外の血液のがんからは全く検出できないことから、濾胞性ヘルパーT細胞の性質をもつリンパ腫の診断に役に立つ遺伝子診断のツールとして開発が進んできました。しかしながら、*RHOA* 遺伝子変異が起こることによってリンパ腫が発生する仕組みやこれを標的とする治療方法は明らかではありませんでした。

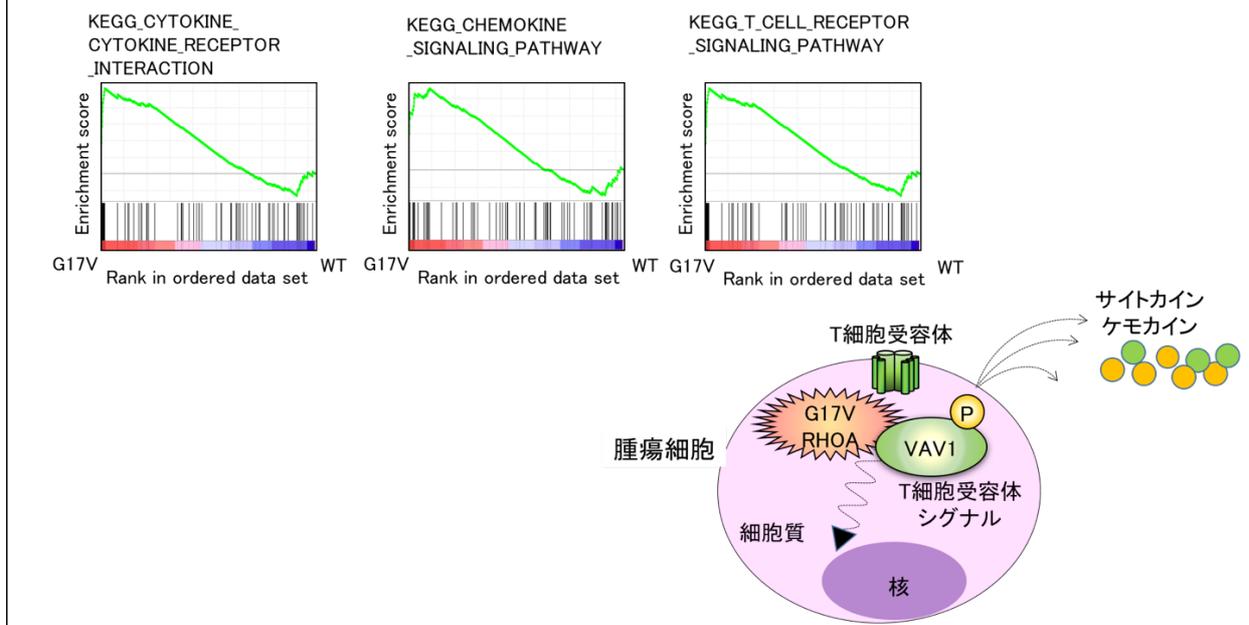
研究内容と成果

本研究では、*G17V RHOA* 遺伝子変異がリンパ腫を引き起こすメカニズムの解明を試み、以下の4点を新たに見出しました。

1. *G17V*変異*RHOA*タンパク質と*VAV1*タンパク質との結合による*VAV1*タンパク質の活性化がみられました。

FLAG標識^{*4}された野生型あるいは*G17V*変異*RHOA*タンパク質を発現するJurkat細胞(急性T細胞性白血病細胞由来細胞株)を抗CD3抗体^{*5}により刺激した後、抗FLAG抗体を用いて免疫沈降^{*6}し、結合するタンパク質を網

図5 G17V変異RHOAを発現するJurkat細胞の網羅的なトランスクリプトーム解析では、T細胞受容体シグナルやサイトカイン-ケモカインパスウェイが異常に活性化していました。



2. G17V RHOA 遺伝子変異がみられない場合の一部では、VAV1 遺伝子変異がみられました。

G17V RHOA 遺伝子変異がある場合には、これによって VAV1 タンパク質の活性化がみられたことから、G17V RHOA 遺伝子変異がない 85 サンプルについて、VAV1 遺伝子変異の有無を調べました。85 サンプル中 7 サンプル (8.5%) で VAV1 遺伝子の機能活性型変異がみつかりました (図 6)。

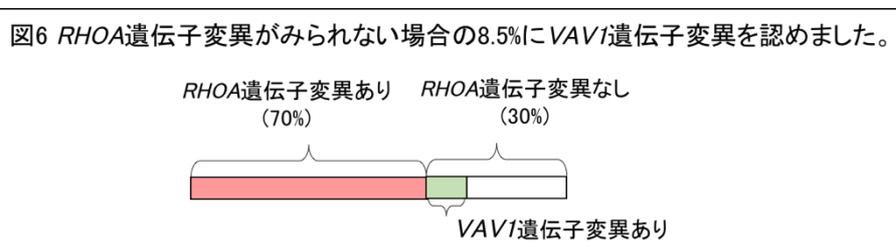


図6 RHOA 遺伝子変異がみられない場合の 8.5% に VAV1 遺伝子変異を認めました。

3. G17V 変異 RHOA タンパク質による VAV1 タンパク質活性化および下流シグナルの活性化は、白血病治療に使用されるチロシンキナーゼ阻害剤であるダサチニブにより阻害されました。

VAV1 タンパク質は、T 細胞に発現しているチロシンキナーゼによってリン酸化されると考えられてきました。これらのチロシンキナーゼは、現在臨床現場で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、ダサチニブは G17V 変異 RHOA タンパク質による VAV1 タンパク質のリン酸化、あるいは変異 VAV1 タンパク質におけるリン酸化、およびこれによる T 細胞の異常な活性化を抑制できる可能性があるのではないかと考えました。これを確かめるために、G17V 変異 RHOA タンパク質あるいは変異 VAV1 タンパク質を発現する Jurkat 細胞の培養液中にダサチニブを加えたところ、VAV1 タンパク質自体のリン酸化や T 細胞受容体シグナルの異常な活性化は阻害されました (図 7)。

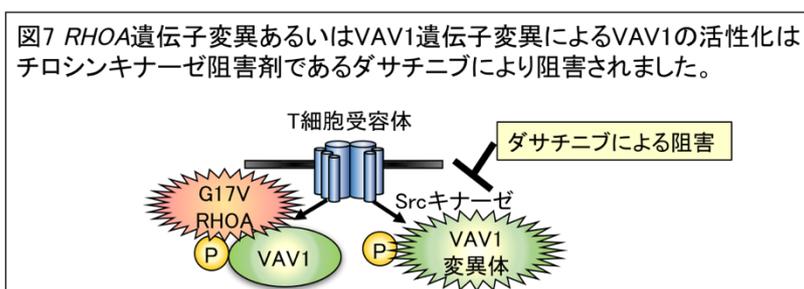


図7 RHOA 遺伝子変異あるいは VAV1 遺伝子変異による VAV1 の活性化はチロシンキナーゼ阻害剤であるダサチニブにより阻害されました。

4. 濾胞性ヘルパーT細胞の性質をもつリンパ腫の組織では、VAV1タンパク質が活性化していることがわかりました。

濾胞性ヘルパーT細胞の性質をもつリンパ腫組織において、活性化したVAV1タンパク質を免疫組織学的染色法^{*9}によって調べ、遺伝子変異の有無と比較しました。その結果、RHOA変異あるいはVAV1変異がある場合に、活性化したVAV1タンパク質の増加がみられ、これが発症の要因となっていることがわかりました。

今後の展開

今回の発見は、悪性リンパ腫の一部について特異的なゲノム異常に基づいた発症の仕組みを示すことに成功したものです。さらに変異による異常な RHOA タンパク質によって生じたシグナルを遮断する方法を明らかにしました。今後は RHOA 遺伝子や VAV1 遺伝子変異の診断にもとづく治療の臨床開発を目指します。

用語解説

- 注1) 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2) 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のこと
- 注3) 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)を阻害する薬剤のこと
- 注4) FLAG 標識:タンパク質を特定の抗体で認識できるように、人工的なアミノ酸配列を当該タンパク質の端につなげること
- 注5) 抗 CD3 抗体:T細胞の表面に発現する CD3 抗原を認識する抗体
- 注6) 免疫沈降:細胞を溶解させた液体に抗体を加え、その抗体が認識するタンパク質を沈降させること
- 注7) トランスクリプトーム解析:細胞のゲノム情報の転写パターンの網羅的な解析
- 注8) サイトカイン-ケモカインパスウェイ:サイトカインやケモカインという免疫細胞が互いに交信するための活性タンパク質のシグナル経路
- 注9) 免疫組織学的染色法:抗原抗体反応を利用して、組織中の特定の物質を検出する方法のこと

参考文献

Mamiko Sakata-Yanagimoto et al., Somatic *RHOA* mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma.

(和訳: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.

掲載論文

【題名】 Activation of RHOA-VAV1 signaling in angioimmunoblastic T-cell lymphoma

(和訳: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)

【著者名】 Manabu Fujisawa¹, Mamiko Sakata-Yanagimoto^{1,2,3}, Shoko Nishizawa¹, Daisuke Komori¹, Paul Gershon⁴, Maiko Kiryu¹, Swarna Tanzima¹, Kota Fukumoto¹, Terukazu Enami¹, Masafumi Muratani⁵, Kenichi Yoshida⁶, Seishi Ogawa⁶, Kosei Matsue⁷, Naoya Nakamura⁸, Kengo Takeuchi^{9,10}, Koji Izutsu^{11,12}, Katsuya Fujimoto¹³, Takanori Teshima¹³, Hiroaki Miyoshi¹⁴, Philippe Gaulard¹⁵, Koichi Ohshima¹⁴, Shigeru Chiba^{1,2,3}

【掲載誌】 Leukemia 誌

1. Department of Hematology, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

2. Department of Hematology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan.
3. Department of Hematology, University of Tsukuba Hospital, Tsukuba, Ibaraki, Japan.
4. Department of Molecular Biology& Biochemistry, UC-Irvine, Irvine, CA, USA.
5. Department of Genome Biology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan.
6. Department of Pathology and Tumor Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan.
7. Division of Hematology/Oncology, Department of Medicine, Kameda Medical Center, Kamogawa, Japan.
8. Department of Pathology, Tokai University School of Medicine, Isehara, Japan.
9. Division of Pathology, Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo, Japan.
10. Pathology Project for Molecular Targets, Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo, Japan.
11. Department of Hematology, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan.
12. Okinaka Memorial Institute for Medical Research, Tokyo, Japan.
13. Department of Hematology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan.
14. Department of Pathology, Kurume University School of Medicine, Kurume, Japan.
15. Inserm U955, Université Paris Est and Département de Pathologie, Hôpital Henri Mondor, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Créteil, France.

問合わせ先

坂田(柳元)麻実子 (さかた やなぎもと まみこ)

千葉 滋(ちば しげる)

筑波大学 医学医療系血液内科