

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：佐藤 和之

専攻分野：内科学

コース：血液・腫瘍内科

指導教授：三浦 偉久男

主論文の題目：

Cell Dynamics During Differentiation Therapy with all-*trans* Retinoic Acid in Acute Promyelocytic Leukemia.

(急性前骨髄球性白血病に対する全トランスレチノイン酸を用いた分化誘導療法中の末梢血白血球細胞動態)

共著者：

Hiroataka Sakai, Yusuke Saiki, Akiko Uchida, Yu Uemura, Satoshi Yokoi, Yuka Tsuruoka, Yuji Nishio, Manabu Matsunawa, Yoshinori Suzuki, Yasushi Isobe, Masayuki Kato, Naoto Tomita, Yasuyuki Inoue, Ikuo Miura

緒言

急性前骨髄球性白血病 (acute promyelocytic leukemia、APL) は急性骨髄性白血病の一病型で、染色体転座 $t(15;17)(q22;q12)$ を持つことを特徴とする。この転座により *PML-RARA* 融合遺伝子が形成され、その産物である *PML-RARA* 融合蛋白により APL が発症すると考えられている。

APL は予後不良な病型であったが、全トランス型レチノイン酸 (all-*trans* retinoic acid、ATRA) による分化誘導療法により治療成績が飛躍的に改善した。APL は寛解が得られれば治癒を期待できるため、安全に寛解導入できれば治癒率はさらに向上すると考えられる。

ATRA 療法中の末梢血では ATRA で分化誘導された APL 細胞由来の白血球と正常造血の回復に由来する白血球が混在している。末梢血の白血球を核の形態から円形核細胞 (Round-shaped nuclear cell、RSN) と分葉核細胞 (Polymorphonuclear cell、PMN) に分けた場合、前者には幼弱

顆粒球・桿状核球・単球・リンパ球が含まれ、後者には分葉核球が含まれる。蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法 (Fluorescence *in situ* hybridization、FISH) を用いて *PML-RARA* 融合遺伝子の有無を調べることで、RSN・PMN を APL 細胞の分化由来と正常造血の回復由来に区別することができる。この方法により ATRA で分化誘導される白血病細胞の動態を定性的・定量的に解析することで、APL を安全に寛解導入する方法を開発できると考え本研究を行った。

方法・対象

当科で治療した APL 患者からインフォームドコンセントを得て、ATRA 療法中の末梢血を用いて検討した。

DAPI (4' 6-diamidino-2-phenylindole) 染色による核形態から RSN と PMN を区別し、FISH で *PML-RARA* 融合シグナルの有無を調べた。

本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会 (承認 3433 号) の承認を得て行った。

結果

症例は 8 例 (男性 6 例、女性 2 例)、年齢中央値は 59.5 歳 (30-82 歳) であった。寛解導入療法は 3 例が ATRA 単独で、5 例が ATRA に化学療法を併用していた。

診断時の骨髄液では FISH で全例に *PML-RARA* 融合シグナルが検出された。G バンド分染法で 2 例に付加的染色体異常 (+8、*ider(17)(q10)t(15;17)*) を認めた。

ATRA 療法中の末梢血白血球は以下の 4 種類に分類できる。

1) *PML-RARA* 陽性 RSN

APL 細胞である前骨髄球とそれが分化した骨髄球・後骨髄球・桿状核球

2) *PML-RARA* 陽性 PMN

APL 細胞が分化して生じた分葉核球

3) *PML-RARA* 陰性 RSN

正常造血に由来する骨髄芽球・前骨髄球・骨髄球・後骨髄球・桿状核球、および単球とリンパ球

4) *PML-RARA* 陰性 PMN

正常造血に由来する分葉核球

ATRA により *PML-RARA* 陽性 RSN は減少・消失し、*PML-RARA* 陽性 PMN は増加したのち減少・消失することが明らかになった。さらに、この細胞動態は全例に共通しており、診断時の白血球数・化学療法併用の有無・付加的染色体異常の有無には関係がなかった。

考察

PML-RARA 陽性 RSN が減少し *PML-RARA* 陽性 PMN が増加することは APL 細胞が ATRA により分化誘導されたことを示し、*PML-RARA* 陽性 RSN・PMN の増加は正常造血の回復を示す。これまで ATRA 療法中の APL 細胞の分化誘導と正常造血回復の過程を定量的に解析した報告はなかった。本研究は末梢血におけるこれらの細胞動態が各症例で共通していることを明らかにした。さらに、この動態は化学療法併用の有無に関係なく共通であることを示した。しかし ATRA 単独で治療した場合に比べ化学療法を併用した場合は、*PML-RARA* 陽性 RSN・PMN が消失するまでの時間が長いことがわかった。

初診時の白血球増多は APL の予後不良因子で、特に白血球数が $10 \times 10^9/L$ を超えると早期死亡や再発の頻度が高いと報告されている (Park JH et al. Blood 2011; 118: 1248-1254, Tallmann MS et al. Clin Adv Hematol Oncol 2011; 9: 1-16, Testa U et al. Ann Hematol 2016; 95: 673-680)。本研究では 2 例で白血球数が $100 \times 10^9/L$ を超えていた。しかし *PML-RARA* 陽性 RSN・PMN の動態は他の症例と同様で、ATRA 療法による APL 細胞の分化誘導は白血球数による影響を受けない可能性がある。

APL の 10-30% の症例では t(15;17) 転座に付加的な染色体異常が観察される (De Botton S et al. Br J Haematol 2000; 111: 801-806, Cervera J et al. Haematologica 2010; 95: 424-431, De Braekeleer E et al. Expert Rev Hematol 2014; 7: 347-357)。本研究では 2 例に付加的染色体異常がみられたが *PML-RARA* 陽性 RSN・PMN の動態は他の症例と同様であった。ATRA 療法下の APL では診断時の付加的染色体異常は予後不良因子とはならないとする報告 (Cervera J et al. Haematologica 2010; 95: 424-431) がある一方、寛解導入療法中の早期死亡率が高いという報告 (Shlenk RF et al. Leukemia 2005; 19: 978-983) もある。本研究では付加的染色体異常がない場合と同等に ATRA で分化誘導される可能性が示された。

結論

今回の検討で、*PML-RARA* の FISH を RSN・PMN に分画することにより個々の症例で分化誘導と正常造血回復を評価可能になることが示された。これは APL の早期死亡を減少させ、治療成績の改善をもたらすことにつながる。