

## 2 節 慢性白血病

---

松野一彦 北海道大学医学部保健学科教授

### 1. 慢性白血病とは

白血病とは、赤血球、白血球や血小板を産生する骨髄で、白血球の分化成熟に障害がおこり、正常の白血球にまで成熟できない幼若細胞(白血病細胞ともいいます)が異常に増殖する疾患です。早期に診断して治療を開始しないと、白血病細胞は無制限に増殖し、体内の肝臓や脾臓などの諸臓器に広がり(これを浸潤といいます)障害を起こすとともに、赤血球、白血球、血小板などの正常血球の産生が障害され、貧血、正常の白血球の減少、血小板減少が起こります。これによって、全身倦怠感、易感染性、発熱、出血傾向などの症状が出現します。白血病は大きく慢性白血病と急性白血病に分けられますが、急性肝炎が治癒せず慢性肝炎に移行するのとは異なり、それぞれ別個の病気と考えられています。慢性白血病はさらに、骨髄系の細胞が増加する慢性骨髄性白血病と、リンパ球系の細胞が増加する慢性リンパ性白血病に分類されます。それぞれの英語の頭文字をとって、前者は CML、後者は CLL と略して呼ばれます。欧米では比較的 CLL が多く全白血病のうちの約 20～30%を占めるのに対して、我が国では CLL は全白血病の 2～3%と少なく、逆に CML が多い傾向にあります。

### 2. 慢性骨髄性白血病 (CML)

慢性骨髄性白血病(CML)とは、多能性造血幹細胞<sup>24</sup>の異常によって顆粒球系細胞<sup>25</sup>がクローン性<sup>26</sup>の異常増殖を来す疾患です。年間発症率は人口 10 万人あたり約1人で男女差は明らかでは

---

<sup>24</sup>多能性造血幹細胞:赤血球、白血球、血小板は、すべて骨髄で多能性幹細胞と呼ばれる細胞が分化・増殖して産生されます。白血病の治療などに用いられる骨髄移植は、正常の多能性造血幹細胞の移植にほかなりません。

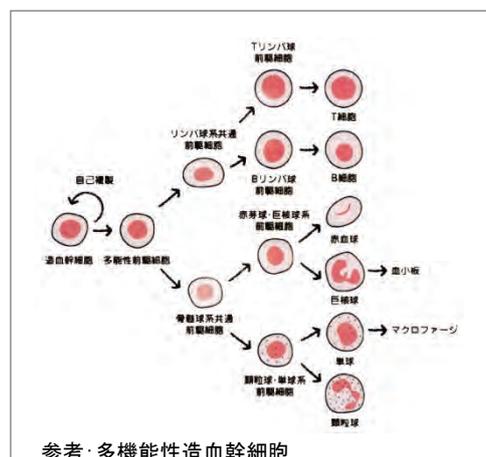
<sup>25</sup>顆粒球系細胞:白血球のうち、好中球、好酸球、好塩基球をまとめて顆粒球系細胞と呼びます。好中球は体内に侵入した細菌などの異物を貪食して殺菌して生体を防御します。また、好酸球、好塩基球はアレルギー反応に関与しています。

<sup>26</sup>クローン性:クローンとは、遺伝的に単一の細胞の集団で、1個の細胞の分裂によって増殖した集団がクローンとすることになります。

ありません。小児では少なく患者年齢の中央値は 50 歳位です、小児では少なく患者年齢の中央値は 50 歳位です。若年者 CML という疾患があり CML と類似していますが、独立した別個の疾患と考えられています。

### 1) 症状

貧血による全身倦怠感、易疲労感と、脾腫による腹部膨満感などの症状で発見されることが多く、稀に血小板減少などによる出血傾向が見られます。最近では、半数近くの患者が無症状で、検査で偶然に白血球増加を指摘され、精密検査で CML と診断される患者さんが増加しています。



### 2) 診察所見

身体所見としては脾腫が重要で、20 年位前までは進行して脾臓が腹腔内の 2/3 位を占める程大きくなってから CML と診断されることがあり、巨脾と呼ばれます(図 1)。しかし、最近では人間ドックなどで白血球増加が指摘され、早期に CML が発見されることが多くなったため、巨脾で診断がつくことはまれとなりました。

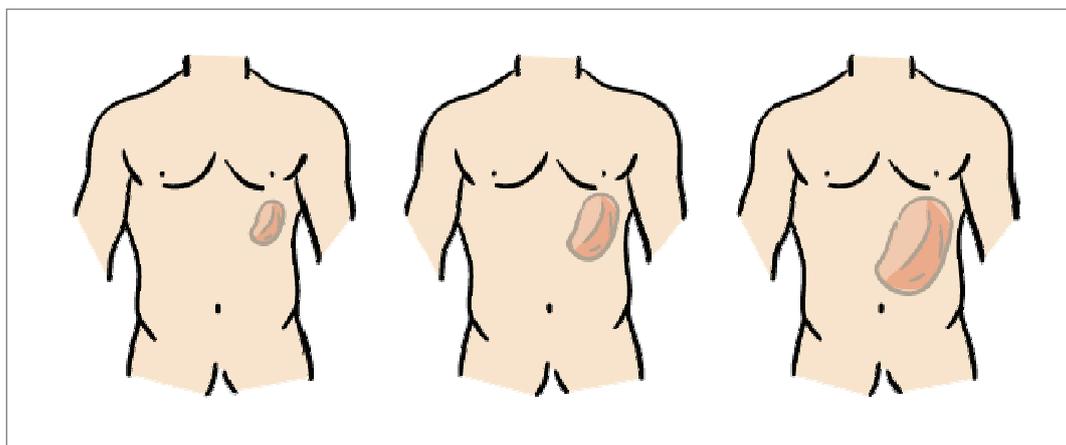


図 1 CML 患者でみられる脾腫および巨脾

### 3) 検査所見

CML では常に白血球は増加しており、進行すると数 10 万/ $\mu$ l(正常では 4,000~8,000/ $\mu$ l)にもおよぶことがあります。慢性期は白血球増加の主体は好中球で、通常では末梢血に出現しな

い後骨髄球, 骨髄球や前骨髄球<sup>27</sup>も増加し, 時には骨髄芽球も末梢血に出現してきます(図 2). 好中球とともに顆粒球を構成する好酸球や好塩基球も増加します. 増悪期あるいは急性転化期には骨髄芽球などの幼若細胞の増加が目立つようになります. 初期には著明ではありませんが, 進行するとともに貧血があらわれてきます. 血小板数は初期にはむしろ増加していることが多いのですが, 進行とともにしだいに減少し, 末期になると血小板減少を呈します.

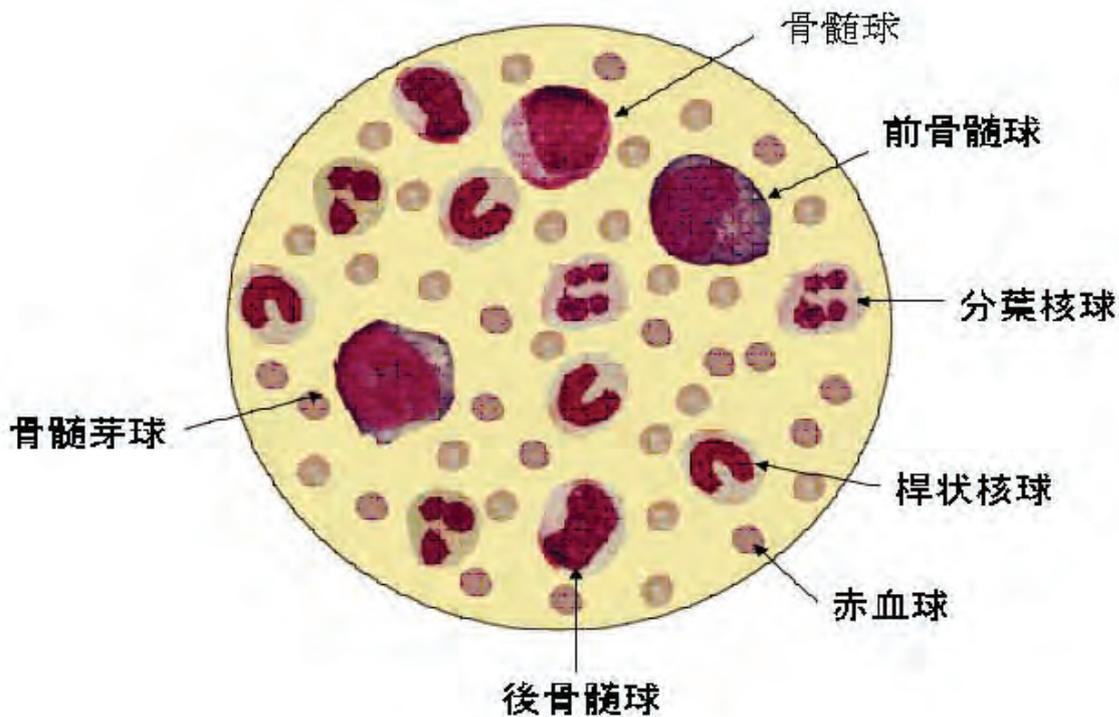


図 2 CML 患者の末梢血でみられる好中球系細胞の増加

診断のためには骨髄検査<sup>28</sup>が必要で, 有核細胞が増加しており, 特に好中球を中心とする顆粒球系細胞の増加が目立ちます. 慢性期には比較的成熟した好中球の増加が主体なのに対し

<sup>27</sup>後骨髄球, 骨髄球, 前骨髄球, 骨髄芽球:成熟好中球(桿状核球, 分葉核球)は, 骨髄中で骨髄芽球→前骨髄球→骨髄球→後骨髄球→桿状核球→分葉核球の順に成熟し, 桿状核球以降に末梢血に出現する. しかし, CML では図2のように通常みられない後骨髄球, 骨髄球, 前骨髄球, 骨髄芽球などの幼若細胞が末梢血に出現する.

<sup>28</sup> 骨髄検査:末梢血液に異常がある場合, 時に骨髄検査が必要になります. 骨髄検査には骨髄吸引検査と骨髄生検検査とがあります. 前者は胸骨ないし腸骨に針を穿刺し骨髄血液を吸引するもので, 骨髄内に増加している細胞の詳細な構造を観察できるという利点があります. 後者は, 腸骨に少し太い針を穿刺し, 骨の一部とともに骨髄組織を採取するもので, 骨髄の構造など比較的広い範囲の観察に適しています. 両者ともに局所麻酔下で, 10~15分くらいで安全に行われます.

て、急性転化期には骨髄芽球などの幼若細胞の増加が主体となることで、両者が鑑別されます。生化学的検査では、尿酸の高値、ビタミン B<sub>12</sub> の高値などがみられます。末梢血を用いて好中球のもつアルカリホスファターゼ活性(NAP 活性と呼びます)を検査すると、慢性期には正常に比べ低下しており、急性転化が迫ってくると高値をとるようになります。

末梢血や骨髄血を用いて染色体検査をすると、ほとんど(95%位)の患者でフィラデルフィア染色体(Ph 染色体)と呼ばれる異常な染色体が見つかります。また、遺伝子検査では Ph 染色体と関連する *BCR/ABL* 融合遺伝子が検出されます。この詳細については後述します。急性転化時には Ph 染色体に加えて、もう一つ Ph 染色体が出現する double Ph の出現や、+8, i(17q), +19, t(3; 21)(q26;q22)のような新たな染色体の異常が見られ、これを付加的染色体異常と呼びます。

#### 4) 診断

好中球系の増加を主体とした白血球増加で CML が疑われ、NAP 活性の低下、骨髄検査での顆粒球系細胞の増加、Ph 染色体および *BCR/ABL* 融合遺伝子の検出で診断されます。

#### 5) 治療

以前はブスルファンやヒドロキシウレアなどの抗白血病剤の投与によって治療されていましたが、3〜4年後の急性転化を阻止したり遅らせたりすることは困難でした。一時期大きく腫大した脾臓を摘出する脾摘療法が行われましたが無効で、またインターフェロン療法の効果も限界がありました。しかし、最近積極的に骨髄移植<sup>29</sup>が行われるようになり、治癒も期待できるようになってきました。さらに、*BCR/ABL* 融合遺伝子の存在の結果としておこるチロシンキナーゼ活性<sup>30</sup>の亢進を阻害する薬剤イマチニブ(グリベック)が開発され、これによる治癒の可能性も期待されています。

---

<sup>29</sup> 骨髄移植：白血病や再生不良性貧血などの治療に用いられます。白血病では強い化学療法を行い、白血病細胞を消滅させた後、白血球の型である HLA のできるだけ合ったドナーから造血幹細胞を得て、患者に輸注します。体に入った幹細胞は患者の骨髄内の適当な場所に生着し増殖を始め、正常な赤血球、白血球、血小板が作られるようになります。ドナーから幹細胞を得る方法として、骨髄穿刺をして骨髄中の幹細胞を得る方法と、G-CSF の投与により末梢血液に出現した幹細胞を採取する方法、ならびに臍帯血から幹細胞を得る方法などがあります。

<sup>30</sup> チロシンキナーゼ活性：ATP の γ-リン酸基が、蛋白の特定のチロシンのヒドロキシル基へ転移するのを触媒する酵素活性をチロシンキナーゼ活性と言い、細胞の増殖などに関わる情報伝達に関与しています。

## 6) 予後

CML は、慢性期には症状も軽微であるため、外来通院による治療を続けながら日常生活を維持することが可能です。しかし、約3〜4年後に発熱、種々の疼痛などの症状とともに、末梢血への幼若細胞の増加を伴う著明な白血球増加、貧血の進行、著明な血小板減少が出現し、これを急性転化と呼びます。骨髄検査では骨髄芽球などの幼若細胞が増加します。

幼若細胞は多くが骨髄芽球ですが、時にリンパ芽球であったり、単芽球であったり多彩です。時にこれらの芽球が腫瘍を形成することもあります。染色体検査では Ph 染色体の他に付加的染色体異常が認められます。急性転化をおこすと、各種の抗白血病剤による強力な化学療法を行っても効果は限られているため、CML 治療の原則はできるだけ急性転化を起こさない、急性転化の時期を遅くすることにあるといえます。

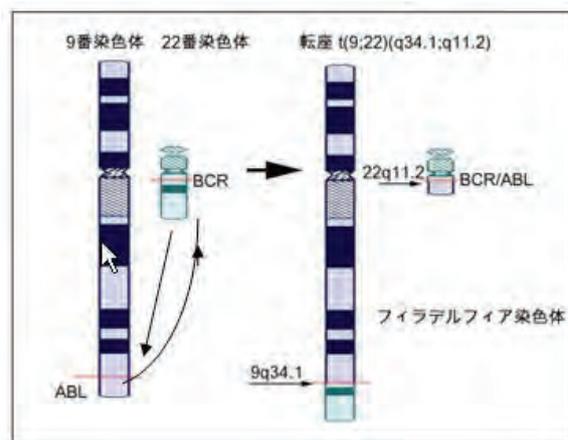


図3 フィラデルフィア染色体(Ph 染色体)

## 3. フィラデルフィア染色体

フィラデルフィア染色体とは、9番と22番染色体の相互転座によって生じる異常染色体(図3)で、略して Ph 染色体と呼ばれます。Ph 染色体は、ほとんどの CML 患者および一部の急性リンパ性白血病(ALL)患者で認められます。

### 1) Ph 染色体発見の歴史

1960年に、米国フィラデルフィアの Nowell と Hungerford は、2例の CML 患者で、通常では見られない微小の染色体を発見しました。次いで、同年エジンバラ学派の Baikie も、12例の CML 患者の血液を培養し、8例に同様の微小染色体を認めました。そして、1961年同じエジンバラ学派の Tough は、CML 患者 18例全例に同様の異常染色体を認め、フィラデルフィア染色体(当時は Ph<sup>1</sup>染色体と略されました)と呼ぶことを提唱しました。

### 2) 染色体の分析

染色体分析法の進歩により、異常染色体の由来が明らかにされるようになり、1973年に Rowley は CML 患者の Ph 染色体は、9番染色体と22番染色体が相互転座の結果生じたもの

であることを発見しました。この相互転座を現在は  $t(9;22)$  と表記、さらに詳細な切断部位も明らかになり、 $t(9;22)(q34.1;q11.2)$  と表記されます。

### 3) 遺伝子の解析と治療の進歩

その後、分子生物学の進歩により、遺伝子の染色体上の位置が同定されるようになり、9 番染色体の切断部位には ABL 遺伝子、22 番染色体の切断部位には BCR 遺伝子が存在することが明らかになりました。CML では、9 番と 22 番染色体の相互転座により、通常は存在しない *BCR/ABL* 融合遺伝子が形成されます。この結果高いチロシンキナーゼ活性を持つ *BCR/ABL* 蛋白が産生され、これが CML の発症に関わっていることが明らかになりました。このように CML という病気にとって、以前、Ph 染色体は診断のマーカーに過ぎなかったのですが、現在では病気の発生原因に直接関わるものと考えられています。

さらに、*BCR/ABL* 融合遺伝子の形成の結果高まったチロシンキナーゼ活性を阻害する薬剤イマチニブ(商品名グリベック)が CML の治療に導入され、現在では目覚ましい効果をあげています。

## 4. 慢性リンパ性白血病 (CLL)

慢性リンパ性白血病は成熟した一見正常に見えるリンパ球が異常に増殖する疾患です。リンパ球は、抗体を産生し液性免疫<sup>31</sup>を担当する B 細胞と、細胞性免疫<sup>32</sup>を担当する T 細胞、およびその他のリンパ球に分類されますが、多くの CLL は B 細胞性で、特にことわりなく CLL といえば B 細胞性 CLL(B-CLL)を指します。CLL は、50 歳以上の比較的高齢者に多く、患者の中央値は約 60 歳です。女性に比べ男性で 2 倍位多いとされています。

### 1) 症状

初期には無症状であることが多く、人間ドックなどによる検査でリンパ球増加を主体とする白血球増加により見つかることがほとんどです。進行すると貧血による全身倦怠感や易疲労感が出現します。

---

<sup>31</sup>液性免疫:抗体を産生して抗原を特異的に認識し排除する免疫機構で、体液性免疫とも呼ばれます。

<sup>32</sup>細胞性免疫:抗体を産生するのではなく、細胞が媒介する免疫反応を指し、ツベルクリン反応などはこちらによります。

## 2) 診察所見

リンパ節腫脹を伴うことが多く、初期には頸部リンパ節腫脹のみで、進行すると全身のリンパ節腫脹を呈します(図 4)。リンパ節は弾性硬で、可動性があり、通常自発痛、圧痛はありません。進行すると脾腫もあらわれますが、CML ほどの巨脾を呈することはありません。

## 3) 検査所見

ほとんどの患者は1万/ $\mu$ l 以上の白血球増加を呈しており、時に進行した例では数 10 万/ $\mu$ l にもおよぶことがあります。主体は成熟したリンパ球で(図 5)、ほとんどは一見正常のリンパ球に見えますが、一部で幼若な形をしているリンパ球も混在します。

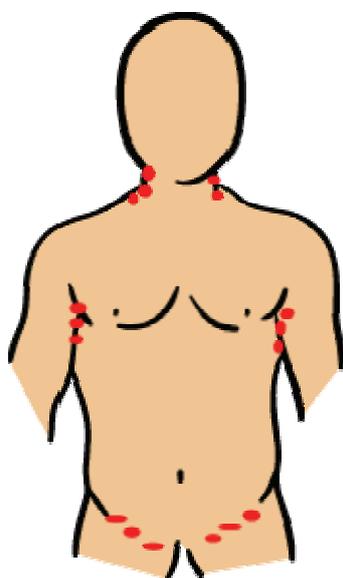


図 4 CLL 患者で見られるリンパ節腫脹

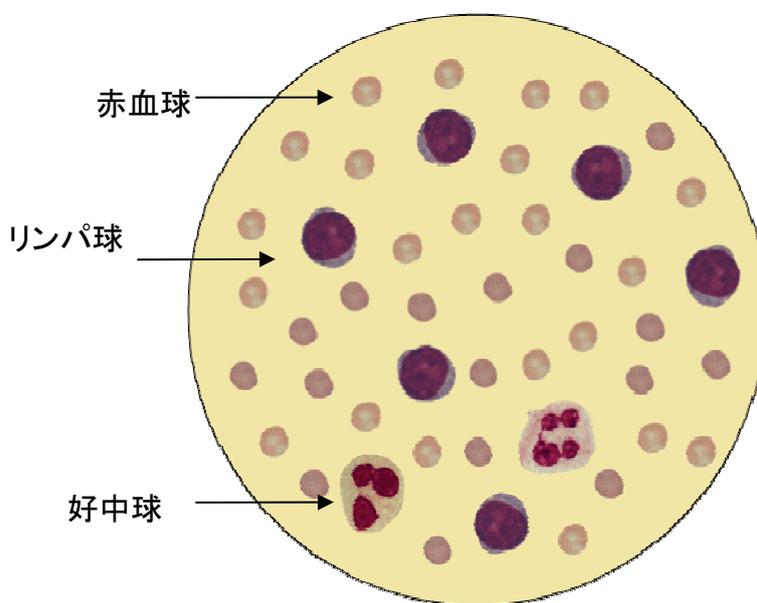


図 5 CLL 患者の末梢血で見られる成熟リンパ球の増加

フローサイトメリー法<sup>33</sup>で増加しているリンパ球の表面形質を調べると、多くの CLL は CD19 や CD20 といった B 細胞の形質を有しており、B-CLL と呼ばれます。ごく一部の CLL では、増加するリンパ球は CD2 とか CD3 などの T 細胞としての形質を有しており、T 細胞性 CLL (T-CLL) と呼ばれます。B-CLL に比べ T-CLL は一般に予後が悪いと考えられています。T-CLL の亜型として我が国で患者の多い成人 T 細胞白血病 (ATL) があります。

<sup>33</sup> フローサイトメリー法: 血球表面に特異的にある抗原に対するモノクローナル抗体を蛍光標識した試薬を用いて血球を処理し、血球が一行に流れた状態で蛍光をあて、血球の性格を簡単に同定する方法で、リンパ球を B 細胞と T 細胞に分類するなど用います。

一般に CLL は初期にはほとんど貧血は見られず、血小板数も正常で、進行するとともに貧血が出現し、血小板数の減少も現れます。骨髄検査では成熟したリンパ球の増加が見られます。末梢血や骨髄血を用いた染色体検査では、CML などと比べて細胞分裂能が穏やかなため、種々の刺激物質を加えて分裂を促して検査を進めます。CML における Ph 染色体のような非常に病気に特異的な染色体異常はありませんが、del(13)(q14q23)<sup>34</sup>などの異常が比較的多いとされています。生化学的検査では、LDH(乳酸脱水素酵素)などの高値が知られています。抗体産生に関係する B 細胞性の腫瘍であるため、 $\gamma$ -グロブリンは低値を示します。また、抗赤血球抗体(クームス抗体)や抗血小板抗体などの自己抗体が検出されることがあり、溶血性貧血や血小板減少症の原因となることがあります。

#### 4) 診断

成熟したリンパ球の増加を主体とした白血球増加が持続した場合に CLL が疑われ、単クローン性の増加であることの証明およびフローサイトメトリー法による表面形質の検査で診断がつけられます。

#### 5) 治療

白血球増加(リンパ球増加)のみで、貧血、血小板減少が見られなければ、無治療にて経過観察とします。特に高齢となつてからの発症の場合は、強力な治療は副作用の問題などで避けた方がよい場合があります。貧血、血小板減少、リンパ節腫脹が明らかになった場合にはクロラムブシルなどの抗白血病剤で治療を開始します。

#### 6) 予後

一般的に発症が遅いこと、病気の進行も緩徐であること、CML のような急性転化が見られないことなどにより、CLL 特に B-CLL は白血病の中では比較的予後が良いと考えられており、白血病と無関係の原因で亡くなることもあります。

---

<sup>34</sup> del(13)(q14q23): 13 番染色体の長腕(q)の 14 から 23 が欠失していることを表す。

## 3 節 小児白血病

---

岩井艶子 国立病院機構香川小児病院小児科遺伝科医長

### 1. 小児白血病とは

小児白血病は成人と異なり 95%以上が急性白血病です。急性白血病の約 70%は急性リンパ性白血病(acute lymphoblastic leukemia: ALL)で、25%は急性骨髄性白血病(acute myelogenous leukemia: AML)、2%が混合型白血病(mixed lineage leukemia: MLL)で、慢性骨髄性白血病(chronic myelogenous leukemia: CML)は3%くらいです。近年の治療法の進歩で、ALLでは60-80%が、AMLでは40-50%が長期生存、治癒が期待できるようになりました。

### 2. 小児白血病の染色体異常の特徴

小児白血病細胞の染色体異常は成人よりも頻度が高く、ALLでは70-80%に、AMLでは50-80%に染色体異常がみられ、それぞれの異常は病型に特異的です(表1)。これらの異常の中で、ALLではt(9;22)、t(4;11)<sup>35</sup>は予後不良で、t(12;21)、や高2倍体(染色体数51本以上)は予後良好とされ、AMLでは7/7q-が予後不良で、t(8;21)、t(15;17)やinv(16)<sup>36</sup>は予後良好です。

白血病における染色体異常は予後とよく相関することが明らかになり、最近では、強力な化学療法や造血幹細胞移植<sup>37</sup>の適応のための重要な指標と考えられています。また、これらの染色体異常の切断部位に存在する遺伝子が、転座により新しく融合遺伝子を形成し、それが白血病の

---

<sup>35</sup> t(9;22), t(4;11):tは転座(translocation)のことです。t(9;22)は9番染色体と22番染色体の間で相互に転座が生じていることを示しています。すなわち9番染色体の一部が22番染色体に付着し、22番染色体の一部が9番染色体に付着します。t(4;11)も同様に4番と11番染色体の転座を示します。

<sup>36</sup> inv(16):invは逆位(inversion)のことです。ひとつの染色体、この場合は16番染色体の2箇所切断がおり、染色体が逆さに付着した場合に生じる異常です。

<sup>37</sup>造血幹細胞移植:抗癌剤の治療で完全寛解にならなかった場合や、再発した場合などに行われる治療です。大量の抗癌剤や放射線治療を行って、白血病細胞を根絶した後に、元気な人の造血幹細胞を移植して、患者さんの体内で正常な血液細胞を作らせる方法です。骨髄移植が最も一般的ですが、その他に、臍帯血移植、末梢血幹細胞移植があります。

発症に関与していることが明らかになってきました。新しく形成された融合遺伝子<sup>38</sup>を用いて、化学療法の治療効果の判定や微小残存病変(minimal residual disease:MRD)の追跡が可能となり、臨床上よく利用されています。

表1 小児白血病で見られる染色体異常と臨床像

染色体転座	頻度 (%)	融合遺伝子	臨床病像
<b>急性リンパ性白血病</b>			
t(12;21)(p13;q22)	15~20	<i>TEL/AML1</i>	B 前駆細胞型, 予後良好
t(1;19)(q23;p13.3)	5	<i>E2A/PBX1</i>	Pre-B 細胞型, 白血球増多, CNS 浸潤
t(9;22)(q34.1;q11.2)	3	<i>BCR/ABL</i>	B 前駆細胞型(時に mixed lineage), 年長児, 白血球増多, 予後不良
t(4;11)(q21;q23)	2	<i>MLL/AF4</i>	CD10 陰性 B 前駆細胞型, 乳児, 白血球増多, 予後不良
t(8;14)(q24;q32.3)	1	<i>IGH/MYC</i>	B 細胞型, L3, 髄外腫瘍, 短期強力療法により予後改善
t(11;14)(p13;q11)	1	<i>TCRD/TTG2</i>	丁細胞型, 縦隔腫瘍, 白血球増多
高 2 倍体	20~25		B 前駆細胞型, 予後良好
<b>急性骨髄性白血病</b>			
t(8;21)(q22;q22)	10	<i>AML1/MTG8</i>	M2*, Auer 小体, 腫瘍形成, 予後良好
inv(16)(p13q22)	10	<i>CBF/MYH11</i>	好酸球増多, M4Eo, CNS 浸潤, 予後良好
t(9;11)(p22;q23)	7~9	<i>MLL/AF9</i>	M4*または M5*, 乳児, CNS 浸潤, 凝固異常
t(15;17)(q22;q21)	5		M3*, Auer 小体, 年長児, 白血球減少 ATRA で分化誘導
7q-/7	5		MDS. M1*, M2*, M4*, 予後不良

\*M1~M5 は FAB 分類より CNS:中枢神経系(central nervous system)

<sup>38</sup>融合遺伝子:キメラ遺伝子ともいいます。染色体転座によってそれぞれの染色体の切断点にある遺伝子どうしが融合し、正常に存在しない遺伝子を作ります。その新しくできた異常な遺伝子を融合遺伝子といい、これが白血病の原因となります。よく知られているのが、*bcr/abl* 融合遺伝子ですが、これから作られるタンパクは白血病細胞を作るという指令を絶え間なく出します。そのため体内で白血病細胞がどんどん作り続けられます

### 3. 微小残存病変 (MRD) とは

骨髓標本を光学顕微鏡で肉眼的に見て骨髓中の白血病細胞が 5%以下になると臨床的には完全寛解とといいます。しかしながらこの段階でも体内には  $10^{10}$  個の白血病細胞が存在するといわれています。この光学顕微鏡で検出困難な白血病細胞 MRD といいます。最近では、MRD の測定は遺伝子検査の1つである定量的ポリメラーゼ連鎖反応法 (polymerase chain reaction: PCR) で行われており、1 万から 100 万個の正常細胞に 1 個存在する異常細胞も検出可能となっています。再発の原因は主としてこのような残存腫瘍細胞の再増殖によるものと考えられています。化学療法後も腫瘍細胞の根絶をめざして、強力な治療を継続し、より深い寛解すなわち分子生物学的寛解をめざします (図 1)。さらに、寛解後の残存病変の推移から予後が推定できます。ALL では治療開始後 MRD が速やかに減少する症例では予後良好であり、MRD 量が多い症例では再発のリスクが高くなります。MRD を測定することによって症例毎の治療に対する反応性を残存腫瘍量の変化として評価することは、治療方針の決定に際して非常に有用なデータとなります。たとえば MRD 強陽性では臨床的に再発する前に移植などさらに強力な治療を選択することができます。一方、早期に MRD が陰性化すれば、抗腫瘍剤の減量や治療期間の短縮が期待できます。

### 4. 小児白血病の染色体異常

小児白血病にみられる染色体異常で、代表的なものについて概説します。

#### 1) 急性骨髄性白血病 (AML)

##### (1) 8 ; 21 転座 (AML1/ETO 融合異常)

小児 AML の 20~40% を占め、形態学的に分化型骨髄芽球性白血病 (M2) に分類されます。8 番染色体 q22 にある *AML1* 遺伝子と 21 番染色体 q22 にある *ETO* 遺伝子が染色体転座により *AML1/ETO* 融合遺伝子を形成します。その融合遺伝子から作られた異常なタンパク質が *AML1* 遺伝子から作られる正常なタンパク質の働きを阻害することによって白血病の発症に関与しているとされています。*AML1* 遺伝子から作られる正常タンパク質は造血において重要な役割を担っています。

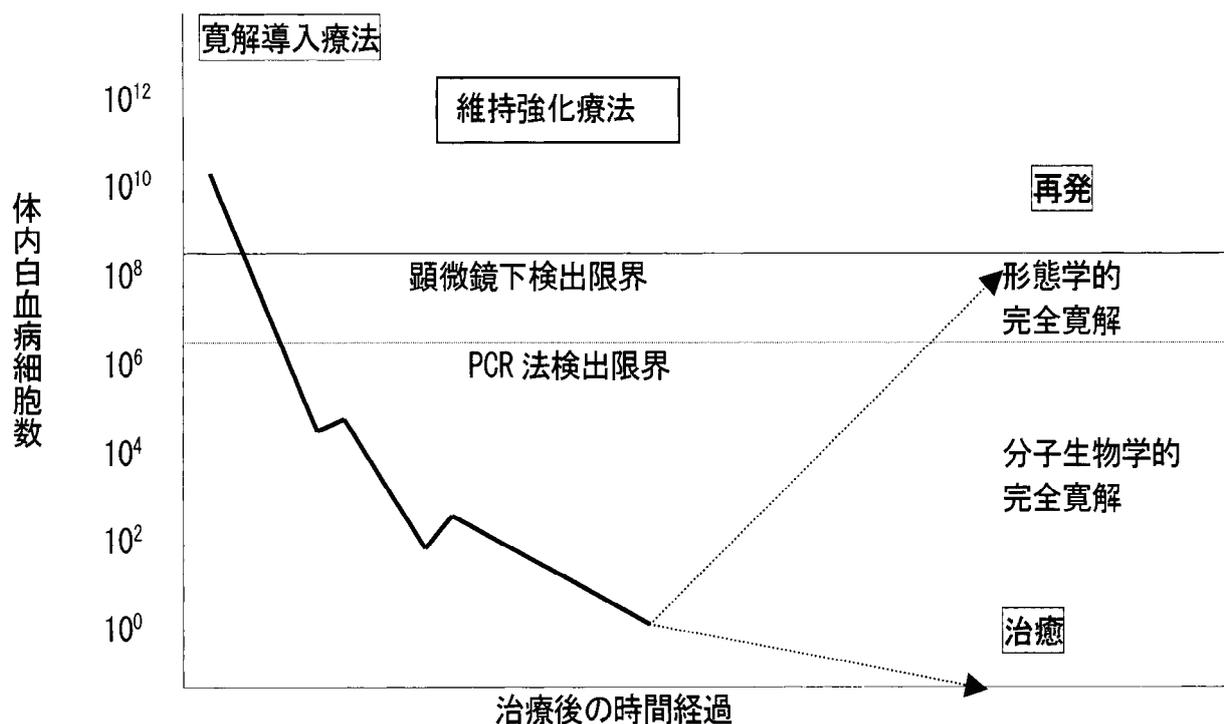


図1 体内白血病の治療効果

## (2) 15 ; 17 転座 (PML/RAR $\alpha$ 融合異常)

小児 AML の 4~7% を占め、形態学的に急性前骨髄球性白血病 (M3) に分類されます。15q22 に存在する *PML* 遺伝子と 17q21 にあるレチノイン酸受容体  $\alpha$  鎖 (*RAR*  $\alpha$ ) 遺伝子が融合遺伝子を形成します。融合遺伝子による白血病発症のメカニズムの解析から、レチノイン酸が急性前骨髄性白血病 (acute promyelocytic leukemia: APL) の発症に関与していることが明らかとなりました。1990 年代に全トランス型レチノイン酸 (ATRA) による治療が確立され、予後は著しく改善しました。ATRA は白血病細胞を分化、成熟させ寛解へ導入するので、分化誘導療法といわれています。

## (3) 11q23 転座 (*MLL* 融合異常)

小児 AML の 7~9% を占め、骨髄単球性白血病 (M4)、単球性白血病 (M5) に分類されますが、AML だけではなく ALL でもみられる染色体異常です。11q23 を切断点とする相互転座は転座相手が多様で、これまでに 30 種類以上が報告されていますが、t(9;11) が多いです。t(9;11) は予後良好ですが、転座相手によっては予後不良となります。11q23 には混合型白血病 (mixed lineage leukemia: *MLL*) 遺伝子が存在し、その異常が白血病発症に関与しています。乳児白血病でよくみられる異常です。

**(4) 16 番腕間逆位, 16;16 転座 (CBFβ/MYH11 融合異常)**

小児 AML の 10% を占め, 形態学的には好酸球増多を伴う骨髄単球性白血病 (M4Eo) です. 16 番染色体の短腕と長腕で切断がおこり, その部位が逆になって再結合します. 16q22 上の *CBFβ* と 16p13 上の *MYH11* が融合遺伝子を形成することによって, *CBFβ/MYH11* タンパク質は細胞質で AML1 タンパク質と結合して, その核内移行が阻害され白血病が発症します.

**(5) 7 番欠失, 7 番長腕部分欠失 (-7/7q-)**

骨髄異型性症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) によくみられる染色体異常です. 予後は不良で, 造血幹細胞移植の適応です.

**2) 急性リンパ性白血病 (ALL)**

**(1) 9 ; 22 転座 (BCR/ABL 融合異常) (Ph 陽性急性白血病) (図 2, 3)**

小児 ALL の 3% ほどで, 形態学的には B 前駆細胞型, 時には混合性白血病型です. 慢性骨髄性白血病 (chronic myelogenous leukemia: CML) と同じ Ph 染色体 (フィラデルフィア染色体) がみられ, Ph 陽性 ALL と呼ばれています. 予後は不良で, 早期の造血幹細胞移植が必要です. 9q34 に存在する *ABL* 遺伝子と 22q11.2 に存在する *BCR* 遺伝子が *BCR-ABL* 融合遺伝子を形成します. この融合遺伝子から作られる BCR-ABL 融合タンパク質は強いチロシンキナーゼ活性を有しており, それが白血病の発症に関与しています. 近年, チロシンキナーゼの阻害薬であるイマチニブが開発され, CML だけでなく Ph 陽性 ALL でも効果があり注目されています.

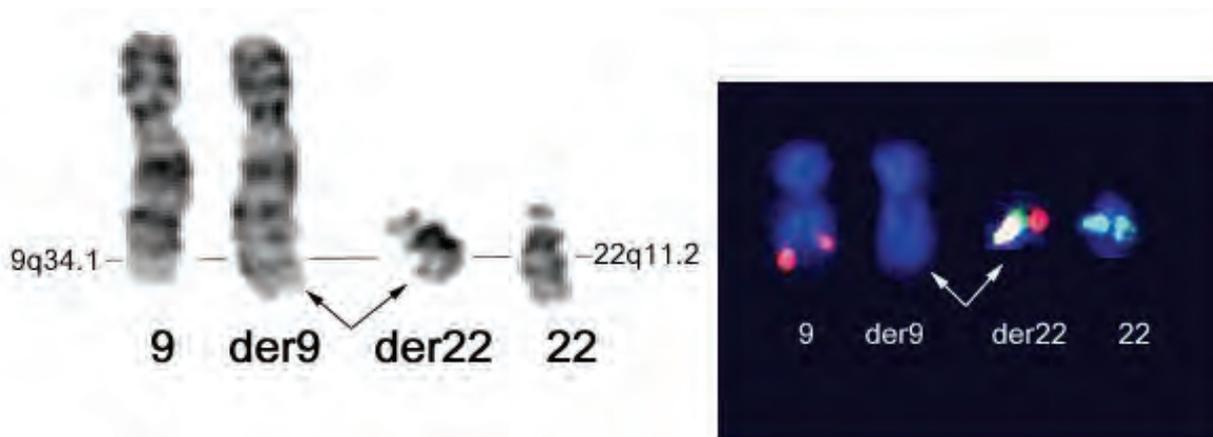


図 2 9 番染色体と 22 番染色体の相互転座 t(9;22)(q34.1;q11.2)

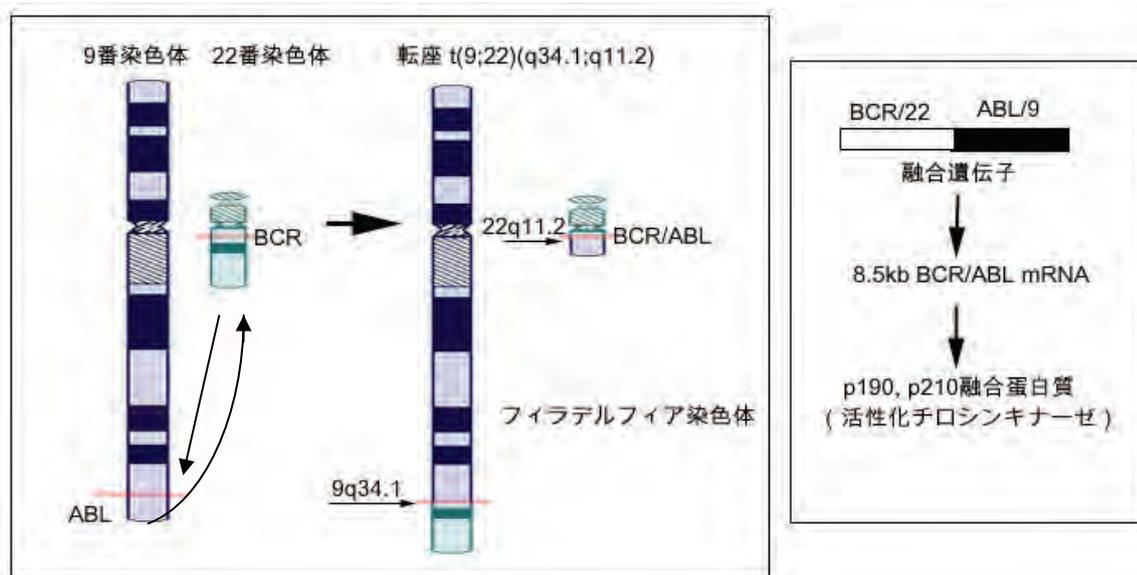


図3 9;22 転座におけるフィラデルフィア染色体, *BCR/ABL* 融合遺伝子の形成と  
*BCR/ABL* 融合遺伝子から融合蛋白質の形成

#### (2) 1 ; 19 転座 (*E2A/PBX1* 融合異常) (pre-B 細胞性白血病)

小児 ALL の 5% を占め, ほとんどが pre-B 細胞形質を示します. 比較的治療抵抗性で, 中枢神経浸潤の頻度が高いのが特徴です. 19p13 より *E2A* 遺伝子が, 1q23 より *PBX1* 遺伝子が見いだされ, *E2A/PBX1* 融合遺伝子がこの白血病の発症に重要です.

#### (3) 12 ; 21 転座 (*TEL/AML1* 融合異常) (B 前駆細胞性 ALL)

小児 ALL の中では頻度が高く 15~20% を占め, ほとんどが B 前駆細胞形質を示します. 通常の染色体分析では同定できず, FISH や RT-PCR で検出できます. 12p13 にある *TEL* 遺伝子と 21q22 にある *AML1* 遺伝子が結合して *TEL/AML1* 融合遺伝子を形成しています. 予後は良好です.

#### (4) 高 2 倍体白血病

高 2 倍体白血病は小児 ALL の 20~25% を占め, 染色体数が 50 本以上に増加します. ほとんどは B 前駆細胞形質を示し, 予後は良好です.

#### (5) 8 ; 14 転座 (*MYC* 発現亢進異常) (B 細胞性 ALL)

頻度は低く 1% くらいです. B 細胞形質を示し, バーキットリンパ腫の白血化として知られています. 8q24 には癌遺伝子 *MYC* があり, 14q32 に存在する免疫グロブリンの遺伝子と結合すること

により、*MYC* 遺伝子が活性化されて白血病が発症することがわかっています。最近では化学療法が進歩し、予後は著しく改善されています。

#### (6) 4 ; 11 転座 (T 細胞性 ALL)

頻度は低く 1% くらいです。T 細胞性 ALL にみられる代表的な異常です。14q11 にある T 細胞受容体が関与しています。この転座を有する白血病は年長児に多く、縦隔腫瘍や中枢神経浸潤をきたしやすいことが知られています。

### 3) 乳児白血病 (11q23 転座型白血病)

乳児白血病は小児白血病の 5~10% を占めます。乳児白血病では末梢白血球の増多、肝脾腫があり、形態学的にはリンパ性、骨髄性、混合性のすべてのタイプで発症します。ALL では B 前駆細胞型が多く、AML では急性骨髄単球性白血病 (M4)、急性単球性白血病 (M5) が多いです。11q23 には混合型白血病 (mixed lineage leukemia: *MLL*) 遺伝子があり、*MLL* 遺伝子再構成を高頻度に認めます。*MLL* 遺伝子と命名されていることから推測されるように、11q23 転座型白血病は白血病細胞が骨髄性とリンパ性の両方の正確を併せ持っている急性混合性白血病 (acute mixed lineage leukemia) と診断される頻度が高いようです。11q23 の転座は 4, 6, 9, 11 番染色体など 30 種類以上が知られています。ALL で発症すると予後は不良で、早期に造血幹細胞移植が必要ですが、t(10;11) や t(9;11) は AML で発症することが多く、比較的予後が良いとされています。

## 5. 検査の問題点と今後の展望

小児白血病の治療成績は飛躍的に向上しました。その要因として予後因子の解析が大きく寄与しています。小児白血病の予後因子は以前より初発時の年齢と白血球数で、現在も最も重要な因子です。しかし、細胞遺伝学的な解析が進んだ結果、染色体異常や遺伝子変異が予後に大きく関与することがわかってきました。最近では、年齢、白血球数だけでなく、染色体遺伝子検査の結果も含めて予後を判定し、治療法を決定します。たとえば Ph 陽性白血病では白血球数が著増し、白血球数から予後不良と判定できることもありますが、白血球数があまり増えず、白血球数からは予後良好と判定される症例もあります。そのような症例では染色体、遺伝子検査が予後判定の重要な指標となります。

また、遺伝子検査の進歩により、MRD の測定が可能となりました。MRD の測定により治療への反応性を検討できるようになり、治療への反応が悪く、MRD 強陽性の症例では早期に造血幹

細胞移植を選択することができます。初診時の予後因子に加え、治療への反応性も評価して治療法を決める試みが始まりつつあります。

さらに、染色体異常および、その切断点に存在する遺伝子の解析により、白血病発症のメカニズムが解析され、それに基づいた治療法が開発されています。Ph 陽性 ALL や CML においては染色体転座により *BCR/ABL* 融合遺伝子が形成され、その遺伝子から作られる蛋白が強いチロシンキナーゼ活性を持つことがわかり、チロシンキナーゼ阻害薬であるイマチニブが開発されました。イマチニブは Ph 陽性白血病細胞の増殖を選択的に抑制します。このような治療法は分子標的療法と呼ばれ、近年、その開発研究が加速しています。APL に対する ATRA, CML に対するイマチニブ, CD20 抗原陽性 B 細胞リンパ腫に対するリツキシマブが代表的で、それらの使用により治癒率が飛躍的に向上しています。今後、病型特異的な治療法が開発が進み、白血病治療のさらなる向上が期待されます。

## 4 節 悪性リンパ腫

佐藤悦子 雪ノ聖母会聖マリア病院中央臨床検査センター染色体遺伝子検査室

### 1. 悪性リンパ腫とは

悪性リンパ腫とはリンパ球が腫瘍性に増生する病態をいい、リンパ節に発生するものと、節外性に食道、胃などの消化管や、皮膚などに発生するものとに分けられます。図1に体のリンパ節の分布を示しました。症状としては、リンパ節腫脹以外に発熱、体重減少、夜間盗汗、皮疹などが見られます。血液検査所見としては、貧血、乳酸脱水素酵素(LD、LDH)上昇、可溶性インターロイキン-2(IL-2)レセプター抗体の上昇などが認められます。悪性リンパ腫が発生する主な原因には、染色体転座、遺伝子異常、ウイルス感染などがあります。染色体転座を起こしたことによって癌遺伝子が活性化して増殖する場合や、ウイルスが感染細胞DNAに組み込まれて腫瘍細胞が単一に増殖する場合などが分かっています。遺伝子検査は、ウイルスの証明や、現在までに分かっている悪性リンパ腫に特異的な染色体異常や遺伝子異常を見つけることで診断に役立てられています。

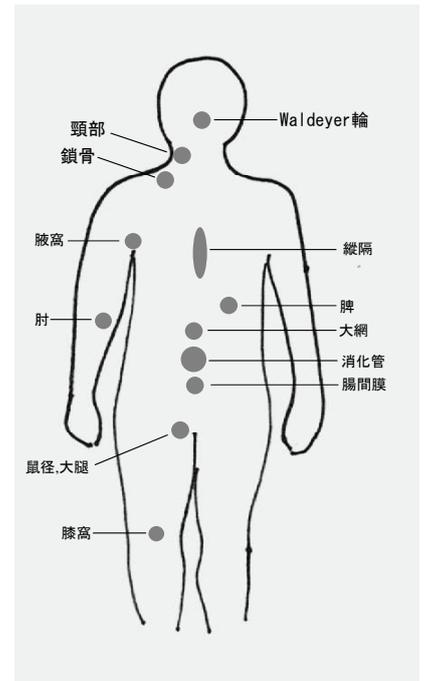


図1リンパ節の分布

リンパ節は体表および体内に広く分布して存在し、悪性リンパ腫を発症すると皮下結節や皮疹、各所属リンパ節腫脹が見られます。

### 2. 悪性リンパ腫の診断

#### 1) 悪性リンパ腫の検査

悪性リンパ腫の検査を図2に示しました。臨床症状、検査データ、画像診断などから悪性リンパ腫を疑ったら、必ず病変部の組織を採取し病理組織学的診断を行います。この時、採取した組織はホルマリンには入れず、生のまま病理組織、細胞表面形質(フローサイトメトリー)、染色体検査、さらに必要に応じて FISH 検査、サザンブロット(DNA の検出)、PCR 法(DNA の検出)、RT-PCR(RNA の検出)などの検査に分けていきます。悪性リンパ腫を疑っていても、実際には良性の反応性変化や病原微生物によるリンパ節炎、あるいはリンパ節に転移した癌腫の可能性も否定できないからです。悪性リンパ腫の診断は、全ての結果を総括して判断されます。

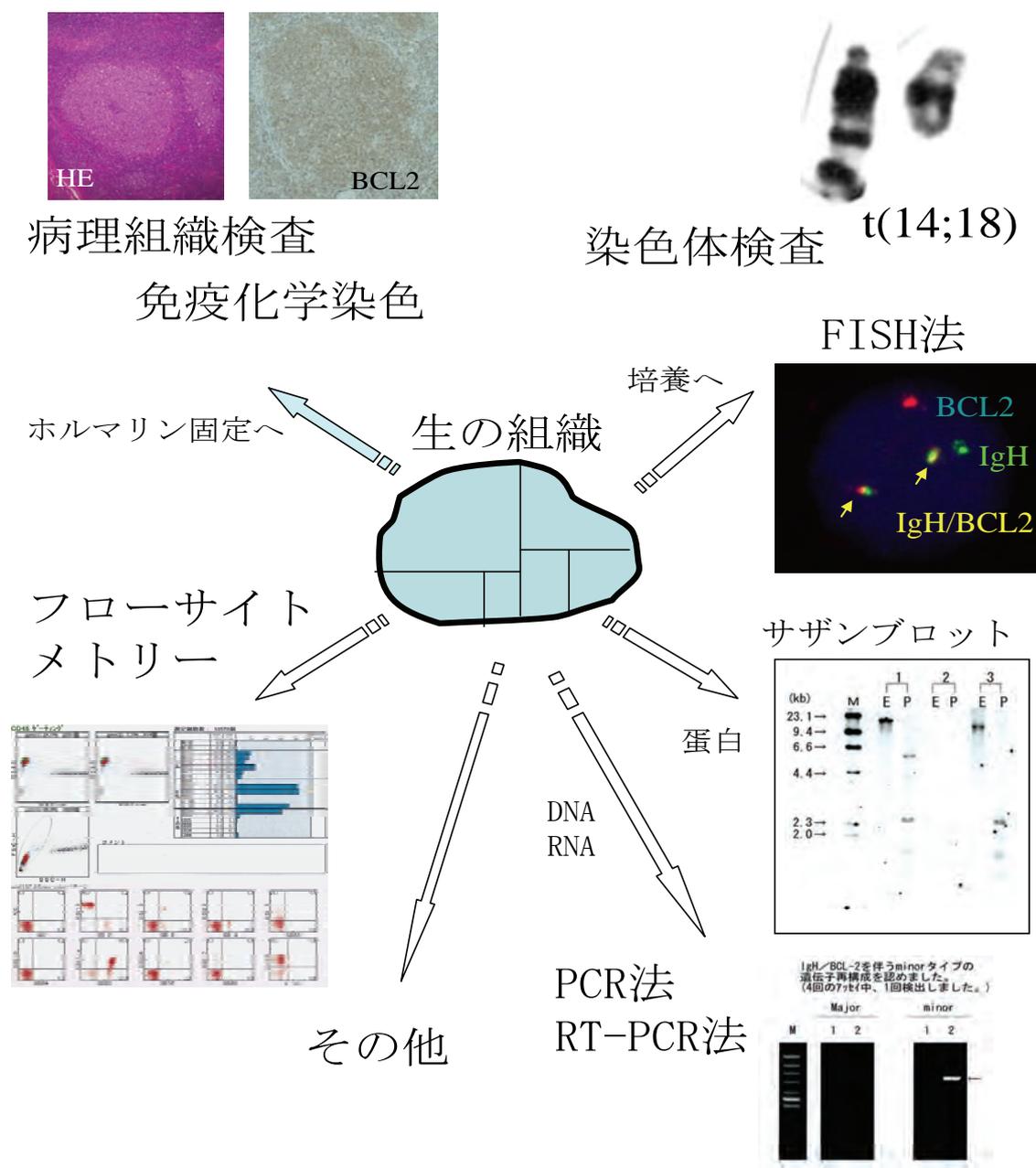


図2 悪性リンパ腫の検査

## 2) 悪性リンパ腫の分類

悪性リンパ腫には多くの種類があります。比較的予後の良いものもあれば、治療抵抗性で急速に症状が進行するものもあります。一般的には新 WHO 分類を基に診断され、悪性度、国際予後指標(International Prognostic Index: IPI), 病期を参考にして治療が進められます(図 3)。悪性リンパ腫はまず、ホジキンリンパ腫か非ホジキンリンパ腫に分類され、さらに非ホジキンリンパ腫は B 細胞性リンパ腫(本邦の悪性リンパ腫の約 70%を占める)と T 細胞性リンパ腫、NK 細胞リ

リンパ腫に分けられます。一般的に、T細胞性リンパ腫は予後不良とされています。ホジキンリンパ腫は悪性リンパ腫全体の約5%の頻度で発生し、現在治療法も確立されています。非ホジキンリンパ腫の場合は、B細胞性なのかT細胞性なのか、あるいはNK細胞性なのかで治療法が異なり、予後の推測ができます。時に、早急に由来をつきとめ治療をしないと生命に危険を及ぼすバーキットリンパ腫などもあり、迅速な病型の分類が重要となります。

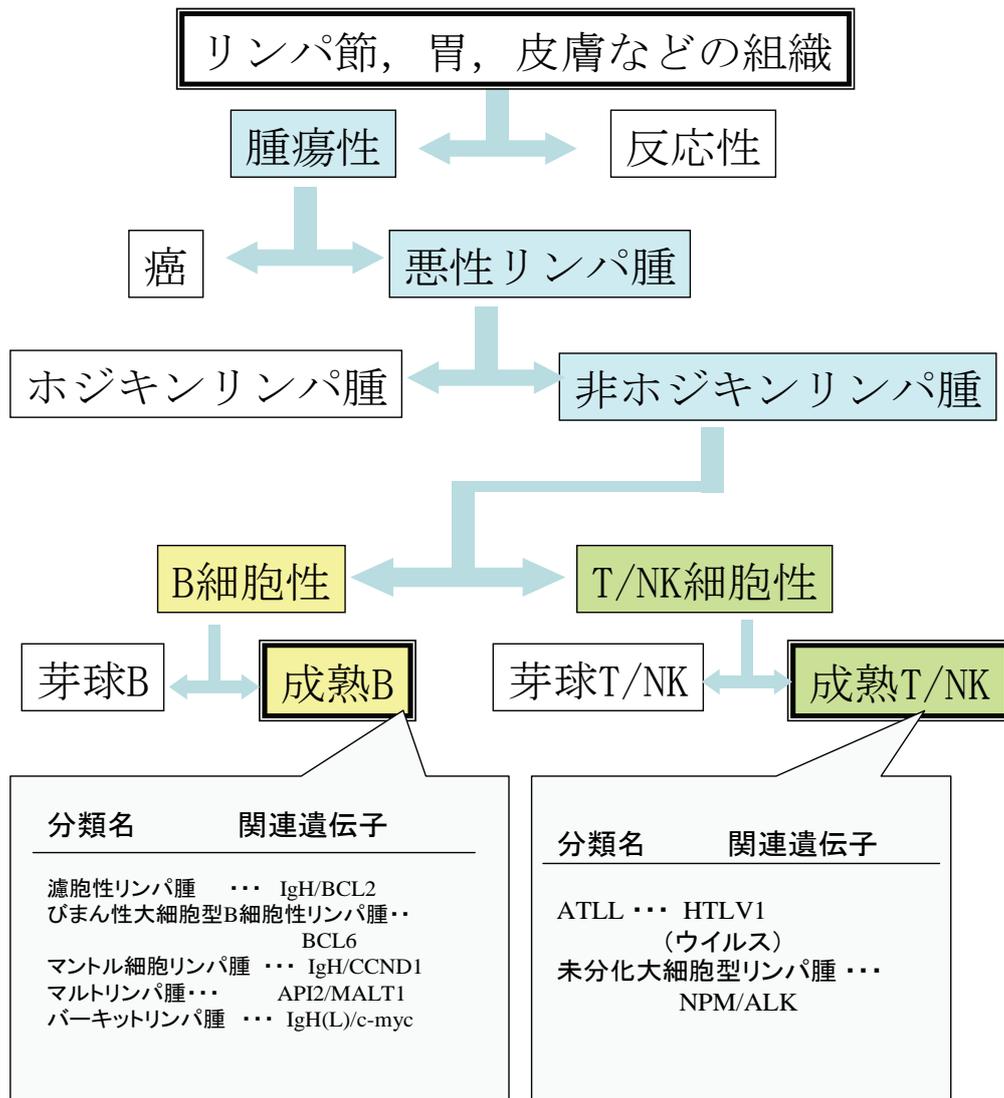


図3 悪性リンパ腫の分類の進め方

### 3) 染色体遺伝子検査

悪性リンパ腫の初発時(治療前)にどのような染色体異常があるかを調べます。ホジキンリンパ腫やT細胞性リンパ腫では特徴的な染色体異常を認めることは少ないのですが、B細胞性リンパ腫には染色体検査が有用です。すなわち、B細胞性の病型で既知の特異的な染色体転座を検出できれば、大いに病型決定に役立つこととなります。ただし、リンパ節組織は染色体検査が困難なこともあります。病型特異的な遺伝子異常の検出を必要とする場合には、簡便なFISH検査が有用です。FISH法は、未培養の細胞やパラフィン組織標本でも検出が可能な利用価値の高い検査法です。さらに、検出感度の高いPCR法は遺伝子を数10万倍ほどに増幅して検出するため、微量の腫瘍細胞の遺伝子異常を見つけ出すことができます。これらの方法を駆使することで、遺伝子レベルでの治療効果判定や経過観察が可能になります。また、悪性リンパ腫は骨髄に浸潤する場合がありますが、その際にもFISH法やPCR法を用いることで病態を早期に知ることができます。

### 4) ウイルス検査

悪性リンパ腫に関連のあるウイルスには、少なくとも Epstein-Barr ウイルス(EBV)、ヒトヘルペスウイルス 8(human herpes virus-8:HHV8)、ヒト T 細胞向性ウイルス 1 型(human T lymphotropic virus type 1:HTLV-1)の3種類があります。サザンブロット法やPCR法などでウイルスを証明します。またインサイチュハイブリダイゼーション(ISH)法を用いて病理組織標本上で目的とするDNAやRNAを検出することも可能であり、とくにEBVの検出に有効です。

### 5) 免疫表現型検査

細胞の内外に存在する特異抗原を、それに対する既知の抗体で検出する方法です。いわゆる抗原抗体反応を利用した方法です。病変組織が腫瘍性か反応性か、また、腫瘍性であれば悪性リンパ腫なのか癌腫なのか、そして悪性リンパ腫であればその分類はホジキンリンパ腫か否か、B細胞性かT細胞性かNK細胞性かなどについて主に検索します。悪性リンパ腫の場合、多くはcluster of differentiation(CD)番号の付けられた抗体を用いて分類を行います。

#### (1) 免疫組織化学染色

ホルマリン固定パラフィン包埋組織標本を対象とし、免疫組織化学的染色法を用いて検出します。

## (2) フローサイトメトリー

生の腫瘍組織から細胞をばらばらにして取り出し、細胞浮遊液の状態では細胞の表面形質を分析します。腫瘍性を判断するポイントの一つに、B細胞性であれば免疫グロブリン軽鎖であるκ鎖とλ鎖のそれぞれの割合の偏りを検出することが診断に有用です。さらに、B細胞性悪性リンパ腫でCD20抗原が陽性を示す場合、抗CD20抗体薬剤であるリツキシマブが抗腫瘍効果をもたらすことが分かっていますので、CD20抗原の有無は大変重要です。

## 3. 悪性リンパ腫の染色体遺伝子異常

### 1) 成熟B細胞性腫瘍

病型特異的な染色体転座が知られている成熟B細胞性腫瘍について解説します。多くは14番染色体長腕の免疫グロブリン重鎖(*IGH*)遺伝子と特定のがん遺伝子が転座を起こします(14q32転座型腫瘍)。転座相手のがん遺伝子によって病型やリンパ腫の種類が明らかになり、治療法が決定される場合があります(表1)。

#### (1) 濾胞性リンパ腫(follicular lymphoma : FL)

t(14;18)転座は、濾胞性リンパ腫の70~95%程度にみられる異常です。18番染色体の*BCL2*遺伝子と*IGH*遺伝子が転座により遺伝子の再構成を起こし、*BCL2*タンパク質が通常より過剰に作られて細胞が不死化(アポトーシスを抑制)することで腫瘍が増殖するとされています。

#### (2) びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(diffuse large B-cell lymphoma : DLBCL)

本邦のB細胞性悪性リンパ腫の中では最も頻度の高いリンパ腫です。濾胞性リンパ腫で見られるt(14;18)転座は20~30%に、*BCL6*遺伝子(3q27)再構成(転座相手は複数である)は約30%に認められます。染色体検査で正常を示しても、FISH法で*BCL6*再構成を検出できることがあります。

#### (3) マントル細胞リンパ腫(mantle cell lymphoma : MCL)

t(11;14)転座は、マントル細胞リンパ腫の70~75%に程度にみられる異常で予後不良とされるため、他の悪性リンパ腫との鑑別が重要となります。11番染色体q13のサイクリンD1は細胞周期に関連があり、結果的にこれが腫瘍の細胞増殖につながると考えられています。

#### (4) 粘膜関連濾胞辺縁帯リンパ腫(extranodal marginal zone B-cell lymphoma : MALT lymphoma)

慢性炎症により胃, 肺, 甲状腺, 唾液腺などに形成される, 粘膜関連リンパ組織の低悪性度 B 細胞性のリンパ腫で, 節外性の代表的リンパ腫です. t(11;18)転座は MALT リンパ腫の約 30% に見られる異常で, 11 番染色体 q21 の *API2* 遺伝子と 18 番染色体 q21.1 の *MALT1* 遺伝子の融合タンパク質 API2/MALT1 により腫瘍細胞が抗アポトーシス化されると考えられています. MALT リンパ腫では高率にヘリコバクターピロリ菌が陽性であるというデータがあり, 除菌により大半は寛解に至ります. しかしながら, t(11;18)転座を保有している場合は除菌抵抗性であるとされています.

#### (5) バーキットリンパ腫(Burkitt lymphoma : BL)

高悪性度のリンパ腫で, 8 番染色体 q24 の *MYC* 遺伝子再構成を認めることが本リンパ腫の確定診断に必須です. *MYC* 転座相手の約 80%は *IGH*(14q32)ですが, 他に免疫グロブリン軽鎖の  $\kappa$  鎖(2p11)と  $\lambda$  鎖(22q11)との再構成も認められます. 急激な経過をたどるため, 早期にバーキットリンパ腫に有効な治療を行う必要があります.

表 1 悪性リンパ腫に見られる病型特異的染色体転座, 遺伝子異常

病型	染色体転座	遺伝子異常	分類
濾胞性リンパ腫	t(14;18)(q32;q21.3)	<i>BCL2/IGH</i>	B 細胞性
びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫	t(14;18)(q32;q21.3) t(3;V)(q27;V)	<i>BCL2/IGH</i> <i>BCL6</i>	
マルトリリンパ腫	t(11;18)(q21;q21.1)	<i>API2/MALT1</i>	
バーキットリンパ腫	t(8;14)(q24;q32)	<i>IGH/MYC</i>	
	t(2;8)(p11;q24)	<i>IGL/MYC</i>	
	t(8;22)(q24;q11)	<i>IGL/MYC</i>	
未分化大細胞型リンパ腫	t(2;5)(p23;q35)	<i>NPM/ALK</i>	T 細胞性

V:variable

## 2) 成熟 T 細胞性, NK 細胞腫瘍

### (1) 成人 T 細胞性白血病/リンパ腫(adult T-cell leukemia/ lymphoma : ATLL)

ヒト T 細胞向性ウイルス1型(human T lymphotropic virus type 1: HTLV-1)を原因ウイルスとして発症する末梢性 T 細胞性リンパ腫で, 日本国内では九州に多いことが知られています.

ATLLの中で、急性型とリンパ腫型の2タイプは高悪性度に、慢性型とくすぶり型の2タイプは低悪性度に分けられ、これらは臨床病態が異なります。ATLLは末梢血、リンパ節、他には皮膚などに多く浸潤します。特異的な染色体異常は認められませんが、サザンブロット法、PCR法などによりHTLV-1を証明します。

#### (2) 未分化大細胞型リンパ腫(anaplastic large cell lymphoma : ALCL)

発生原因と遺伝子異常の関係が明らかになっている数少ないT細胞性悪性リンパ腫の一つです。陽性例では*ALK*遺伝子(2p23)のチロシンキナーゼの活性化により細胞増殖に関与していることが知られています。*ALK*転座相手の約70%は*NPM*(5q35)遺伝子です。

### 4. 検査の問題点と今後の展望

現在、T細胞性リンパ腫に関しては特異的な遺伝子異常が不明なものが多く、B細胞性リンパ腫に比べて発生機序が複雑であると考えられています。今後、すべての悪性リンパ腫において病的責任遺伝子が解明され、リツキシマブのような抗体療法を含めた分子標的治療薬の開発が進めば、高悪性度の悪性リンパ腫でも治癒率が上がることが期待されます。

#### 参考図書

- (1) 最新・悪性リンパ腫アトラス, 第一版, 菊池昌弘・森茂郎編, 文光堂, 東京, 2004
- (2) 新WHO分類による白血病・リンパ系腫瘍の病態学, 森茂郎監修, 中外医学社, 東京, 2004
- (3) 血液・腫瘍科, 第49巻特別増刊号, 悪性リンパ腫のすべて, 科学評論社, 東京, 2004

# 5 節 がんの遺伝子変異

## — 遺伝性変異と非遺伝性変異 —

---

長屋清三 名古屋市立大学大学院医学研究科上級主任

### 1. はじめに

がんは細胞の増殖能・分化能に変化が生じ、過剰な増殖・浸潤・転移が起きる疾患です。がんの原因は、その大半が喫煙、飲酒、食事などの生活習慣です。がんは遺伝子の塩基配列の変異による病気ですが、遺伝子変異には生殖細胞と体細胞に区別して考えることが重要です。生殖細胞の遺伝子変異は精子や卵子を作る細胞に生じる変異で、子供に伝わる可能性があります。これに対して体細胞変異は、生殖細胞以外の細胞に生じる変異ですから、子孫には伝わりません。体細胞ががん化するには、一つまたは複数の遺伝子変異が生じ、タンパク質に変化が生じます。このような特性が子孫に遺伝する場合にそのがんが遺伝性であるといい、遺伝性がんの特徴のひとつは家族性集積性を示します。がん家系症候群(Cancer family syndrome)の概念として同一家系内に複数のがん患者が生じたとしても、それが遺伝性である確率は決して高くありません。一般に高齢者のがんは遺伝と関係が小さく、長年の食生活やたばこなど、環境の影響が主な原因と考えるべきです。遺伝性のがんとは、血縁者で複数の比較的若い人にがんが生じ、それが同じ臓器の場合などに疑われます。

### 2. 遺伝の形式

単一遺伝子病の遺伝形式は、一般にメンデルの法則(優性の法則、分離の法則、独立の法則)に従います。一方、ミトコンドリア遺伝子(母系遺伝)や多因子遺伝病はメンデルの法則に従わないので、非メンデル型遺伝と呼ぶことがあります。メンデル型遺伝病の場合、異常な遺伝子が常染色体上にある場合は常染色体性遺伝(autosomal inheritance)と呼び、X染色体上にある場合はX連鎖性(X-linked inheritance)遺伝と言います。

### 3. 遺伝子の発現様式

遺伝にはその形質の発現様式により、優性遺伝(dominant inheritance)劣性遺伝(recessive

形質と呼び、同型接合体(ホモ)<sup>39</sup>にならないとその形質が表れない形質を劣性形質と呼んでいます。例外としてABO式血液型のA型とB型のようにどちらも優性形質を示すもの(共優性)、ヘテロ接合体が優性ホモ接合体と劣性ホモ接合体の中間の形質表現を取るもの(不完全優性)もあります。家族性大腸腺腫症の原因遺伝子である *APC* や Li-Fraumeni 症候群の原因遺伝子である *P53* 遺伝子の変異が生殖細胞に起きていると、もう一方の対立遺伝子に異常が起きただけでその細胞はがん化してしまいます。この場合、遺伝子がホモになって発病するので劣性遺伝形式ですが、ある特定のがん遺伝子が親から子に伝えられ必ず発症するという点では優性遺伝形式です。

#### 4. 生殖細胞系列の変異と体細胞系列の変異

遺伝病の検査では、次世代に伝播される遺伝的形質として生殖細胞系列の変異を主に扱っていますが、遺伝性が不明な大部分の腫瘍の遺伝子検査では、腫瘍部と非腫瘍部のDNAを対比して生殖細胞系列の変異と体細胞系列の変異の鑑別を明確に行い診断する必要があります。EBVはリンパ球、HIVは主にT細胞に感染します。固形腫瘍は「かたまりをつくるがん」の意で体細胞系列のがんと同じではないです。

#### 5. 家族性腫瘍

家族性腫瘍とは、腫瘍(多くはがん)が家族内に集積して発生する状態であり、単一遺伝子の変異が原因で発生する遺伝性腫瘍と多因子による場合が含まれます。がん家系症候群(Cancer family syndrome)の概念として①家系内に大腸がん、子宮内膜症、卵巣がんなどのがん発生頻度が高いこと、②若年発症であること、③多重性発症の頻度が高いこと、④常染色体優性遺伝形式をとること、などが知られています。がん化に関する遺伝子と本来持っている機能については、がん遺伝子、がん抑制遺伝子、DNA修復遺伝子と呼ばれている3つの遺伝子グループに分類されます(表1)。

表1 がん化に関係する遺伝子と本来持っている機能

がん遺伝子	細胞の分裂, 増殖を促進する
がん抑制遺伝子	細胞の増殖を抑制する
DNA修復遺伝子	ゲノム構造を安定に維持する

<sup>39</sup>同型接合体(ホモ):1対(2本)相同染色体の遺伝子座の、両方が同じ遺伝子を持っている個体。

原因遺伝子が同定されている疾患の遺伝形式には、優性遺伝と劣性遺伝があります(表2)。家族性腫瘍における遺伝子検査の有用性に関して3つのグループに分類されており、それを表3に示します(表3)。

表2 遺伝子が同定されている疾患

常染色体優性遺伝	原因遺伝子
網膜芽細胞腫	<i>RB</i>
Wilms 腫瘍	<i>WT1</i>
家族性大腸腺腫症	<i>APC</i>
家族性乳癌	<i>BRCA1, BRCA2</i>
多発性内分泌腺腫症 1 型(MEN1)	<i>MEN1</i>
家族性黒色腫	<i>p16<sup>INK4a</sup></i>
結節性硬化症	<i>TSC1, TSC2</i>
神経線維腫症 1 (Recklinghausen 病)	<i>NF1</i>
神経線維腫症 2(NF2)	<i>NF2</i>
von Hippel-Lindau 病	<i>VHL</i>
Li-Fraumeni 症候群	<i>TP53</i>
家族性皮膚基底細胞癌 (母斑性皮膚基底細胞癌症候群)	<i>PTCH</i>
Cowden 病	<i>PTEN</i>
多発性外骨腫	<i>EXT1, EXT2</i>
多発性内分泌腫瘍症2型(MEN2)	<i>RET</i>
遺伝性乳頭状腎細胞癌	<i>c-Met</i>
遺伝性非腺腫症性大腸癌	<i>MSH2, MLH1, PMS1, PMS2</i>
常染色体劣性遺伝	原因遺伝子
色素性乾皮症	<i>XP</i>
末梢血管拡張性運動失調症	<i>ATM</i>
Fanconi 貧血	<i>FA (FAA, FAC)</i>
Bloom 症候群	<i>BLM</i>
Werner 症候群	<i>WRN</i>

表3 がんの易罹患性検査を行なう上で考慮すべきカテゴリー

グループ1：原因遺伝子が明確に同定されており，検査の結果から医療方針を決めることができる疾患。	
疾患，症候群	検査すべき遺伝子
家族性大腸腺腫(FAP)	<i>APC</i>
多発性内分泌腫瘍症 2 型(MEN2)	<i>RET</i>
多発性内分泌腫瘍症 1 (MEN1)	MEN1
網膜芽細胞腫	<i>RB1</i>
Von Hippel-Lindou 病	<i>VHL</i>
グループ2：原因遺伝子と特定のがんへの易罹患性との関連がかなりの程度明らかになっているが，研究的側面を残す。	
家族性乳癌	<i>BRCA1, BRCA2</i>
Li-Fraumeni 症候群	<i>p53(TP53), CHEK2</i>
Cowden 病	<i>PTEN</i>
グループ3：疾患と突然変異との関係が明らかでない場合．原因遺伝子の関係がごくわずかな家族でしか分かっていない。	
毛細血管拡張性運動失調症	<i>ATM</i>
家族性黒色腫	<i>p16</i>

がんが発生するメカニズムの一つとして，がん抑制遺伝子の場合，通常は一方の遺伝子に変異しても，もう一方の遺伝子が正常であるため見かけ上の変化は起きません．しかし，残ったもう一方の遺伝子にも変異が起こるとがん化に向け進行します(Knudson のツーヒット説)．一般的に，体細胞で後天的に生ずるがんは，元々正常な体細胞の遺伝子に変異が起き(体細胞変異)，さらに2本目の遺伝子に変異が起きる必要があるため，おのずと高齢で発症する傾向にあります．しかし，生まれながらにして一方の遺伝子に変異している場合は，「ワンヒット」しただけで変化が起こるので若年でがんが発症する傾向があります(図1)．

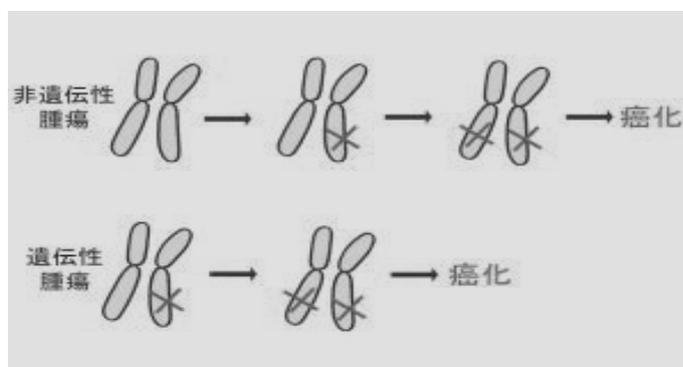


図1 Two hit 説と発がんの模式図

## 6. 検査の問題点と今後の展望

遺伝性がんの遺伝子診断を行なうに当たって、被験者と私たち医療スタッフは、その背景にあるいくつかの問題点を正しく認識し、十分納得が得られたうえで検査を実施することが望ましいと思います。私たちが持っている知識や情報を分かりやすく提示し、遺伝子診断の本来の目的である、患者および家族の皆さまの医療の充実に寄与できれば幸いと考えています。

### 参考図書

- (1) 梶井英治 編:がん遺伝子とがん化, 新人類遺伝学入門, 171-175, 南山堂, 東京, 1999
- (2) 宇都宮譲二 監:家族性腫瘍カウンセリング各論, 家族性腫瘍遺伝カウンセリング—理論と実際—, 254-333, 編集 恒松由記子, 湯浅保仁, 数間恵子, 田村智英子, 金原出版, 東京, 2000

## 6 節 家族性大腸がん

市川 明 栃木県立がんセンター臨床検査部

### 1. はじめに

悪性腫瘍は、遺伝疫学や分子生物学の進歩により遺伝子の構造変化と形質発現の関係が明らかになってきました。さらに、がん予防の見地からも家族性腫瘍に関する研究が進み、その概念が明らかにされてきました。家族性腫瘍は、家族集積を示すことは明らかですが、臨床や遺伝子解析的にがん化の可能性がある場合も含まれる症候群と言えます。遺伝子異常としては、単一遺伝性の疾患と複数の遺伝子が関与している疾患の両者が存在します。家族性大腸がんの主なものに、家族性腺腫性ポリポーシス (familial adenomatous polyposis: FAP) と遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (hereditary non-polyposis colorectal cancer: HNPCC) が知られています。FAP の原因遺伝子は、*APC* (adenomatous polyposis coli) 遺伝子の異常が関与し、HNPCC には、*hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6* など複数の DNA 修復遺伝子の異常が知られています。特に *hMLH1* 遺伝子は遺伝子変異に加え、プロモーター領域<sup>40</sup>のメチル化<sup>41</sup>による不活化(エピジェネティックな変化と言う)も知られています。これらの DNA 修復遺伝子の異常は、マイクロサテライト<sup>42</sup>不安定性 (microsatellite instability: MSI) として検出されます。遺伝性大腸がんの原因遺伝子を表 1 にまとめました。さらに、HNPCC の診断基準として、国際的研究グループによって提唱されたアムステルダム基準が広く用いられてきました(表 2)。しかし本邦の集計によると、アムステルダム基準を用いると、HNPCC は全大腸がんの 0.15 から 0.18% と極めて少ないことから、大腸がん研究会による臨床基準が提唱されました(表 3)。本邦ではこの基準をもとに臨床的に診断が試みられています。この項では主に、家族性腺腫性ポリポーシス(FAP)と遺伝性非ポリポーシス大腸癌(HNPCC)について述べます。

<sup>40</sup>プロモーター領域: 遺伝子が活性化する場合に、転写因子が特異的に結合する DNA 領域で、転写の開始位置や速度を決定している。ほとんどは遺伝子(構造遺伝子)の上流に存在している。

<sup>41</sup>メチル化: メチル基(CH<sub>3</sub>-)が付加される反応をいう。メチル化酵素(メチラーゼ)によりさまざまな物質がメチル化される。一般にプロモーター領域のメチル化は転写活性が低く、抑制する(本文参照)。その理由はメチル化されるとクロマチンの立体構造に変化を生じ、転写因子が結合できなくなる。

<sup>42</sup> マイクロサテライト: ヒトゲノム中には機能不明の単純な繰り返し配列が存在する。これらの配列をマイクロサテライトという(配列とその頻度については本文参照)。

表 1 遺伝性大腸癌とその原因遺伝子

疾患	原因遺伝子	遺伝子座位
ポリポーシス症候群		
家族性腺腫性ポリポーシス (FAP)		
単純型	<i>APC</i>	5q21
Gurdner 症候群	<i>APC</i>	5q21
髄膜芽細胞腫 (Turcot 症候群)	<i>APC</i>	5q21
Cowden 病	<i>PTEN</i>	10q23
Peutz-Jeghers 症候群	<i>STK11</i>	19p
遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC)		
Lynch I & Lynch II	<i>hMSH2</i>	2p21-22
	<i>hMSH6</i>	2p21
	<i>hPMS1</i>	2q31-33
	<i>hMLH1</i>	3p21
	<i>hPMS2</i>	7p22
Muir-Torre 症候群	<i>hMSH2</i>	2p21-22

家族性大腸癌は、その原因遺伝子からも多数のポリープ発生をみる FAP とポリープの発生をみない HNPCC に代表されます。また、ポリープ発生が特徴的な疾患は FAP だけでなく Cowden 病や Peutz-Jeghers 症候群があります。以前に HNPCC は Lynch 症候群と呼ばれ、大腸癌のみに発祥するものを Lynch I 型、大腸癌以外に胃癌、子宮癌、卵巣癌にも発症するものを Lynch II 型と呼んでいました。そして、HNPCC は FAP と異なり、複数の遺伝子が関与しています。

表 2 アムステルダム診断基準 (Minimum criteria for HNPCC, 1990)

- 1) 家系内に 3 名以上の組織学的に確認された大腸癌患者がおり、そのうち 1 人は他の 2 人に対して第一度近親者(親, 子, 兄弟)であること.
- 2) 大腸癌の発生が 2 世代にわたっていること.
- 3) 少なくとも 1 例は 50 歳未満で診断されていること.

表 3 大腸癌研究会の臨床基準 (第 34 回大腸癌研究会, 1991)

- A 群) 第一度近親者(親, 子, 兄弟)に発端者を含む 3 例以上の大腸癌患者を認める大腸癌.
- B 群) 第一度近親者(親, 子, 兄弟)に発端者を含む 2 例以上の大腸癌患者を認め、なおかついずれかの大腸癌が次の a~b のいずれかの条件を満たす大腸癌.
- a) 50 歳以下の若年性大腸癌
  - b) 右側結腸癌脾彎局部より近位
  - c) 同時性あるいは異時性の大腸癌
  - d) 同時性あるいは異時性の他臓器重複癌

## 2. 家族性腺腫性ポリポーシス(FAP)

### 1) APC 遺伝子

FAP の原因遺伝子は *APC* 遺伝子です。この遺伝子は染色体の 5q21 に位置して、2843 のアミノ酸をコードし、15 のエクソンからなる大きながん抑制遺伝子<sup>43</sup>です。その役割は、細胞増殖に関与する Wnt シグナル伝達経路<sup>44</sup>において  $\beta$  カテニンを介して細胞増殖に抑制的に働く遺伝子です。散发性の大腸がん(非遺伝性)では多段階発がんモデルとして、正常粘膜から腺腫への移行期に関与するとされています(図 1)。遺伝形式は優性遺伝性であり、その発生頻度は 1/17000 (日本人)とされています。

### 2) APC 遺伝子の遺伝子検査

遺伝性の異常を検出するためには、血液中の白血球を材料とします。通常は 4~8ml の血液を必要とし、ヘパリンや EDTA などの抗凝固剤入りの採血管を用います。採血後は、凝固しないように注意深く転倒混和します。その後、白血球を分離してその DNA または RNA を抽出して検査に使用します。また、手術や生検で得られた大腸の腫瘍組織も同じように検査材料になります。前述したように、*APC* 遺伝子は非常に大きな遺伝子であるため検査期間は通常1週間以上かかります。しかし、あらかじめ変異箇所がわかっているような家系内の患者の検査であればその箇所だけ検査をすれば済むので検査時間はかなり短縮されます。

## 3. 遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC)

### 1) DNA 修復遺伝子

HNPCC 腫瘍のほとんどは、DNA 修復遺伝子<sup>45</sup>異常が原因で起こります。ヒト DNA 修復遺伝子には、*hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH3*, *hMSH6*, *hPMS1*, *hPMS2* が知られています。これらの遺伝子産物は、細胞分裂時の DNA 複製が正確に行われるために非常に重要です。DNA 複製

---

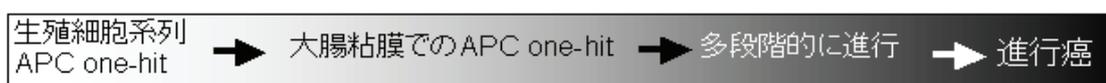
<sup>43</sup> がん抑制遺伝子: がん遺伝子とは反対に、細胞の増殖を抑制する遺伝子でこの遺伝子の変異を起し、不活性化することはがんの発生や悪性を誘引する。現在までに約 20 種類が見つかった。

<sup>44</sup> Wnt シグナル伝達経路\*5: 胚発生とがんに関連する蛋白質のネットワークのであり、多くの種においてよく保存されている。この経路は、他の転写因子と相互作用して特異的な遺伝子を発現する。

<sup>45</sup> DNA 修復遺伝子: DNA はさまざまな要因により変化を受けている。これを修復するために生体は修復するための物質や酵素が用意されているが、その遺伝子群を DNA 修復遺伝子という。この遺伝子の破綻は、がん化を誘引することが考えられる。

時にはいろいろな塩基対合の誤り(ミスマッチ)が起こりますが、その部分を検出し修復する役割を果たしています。特に、*hMLH1*と*hMSH2*遺伝子の異常はHNPCCにおける生殖細胞変異<sup>46</sup>の頻度が高いことが知られています。

## FAP



## 散発性大腸癌

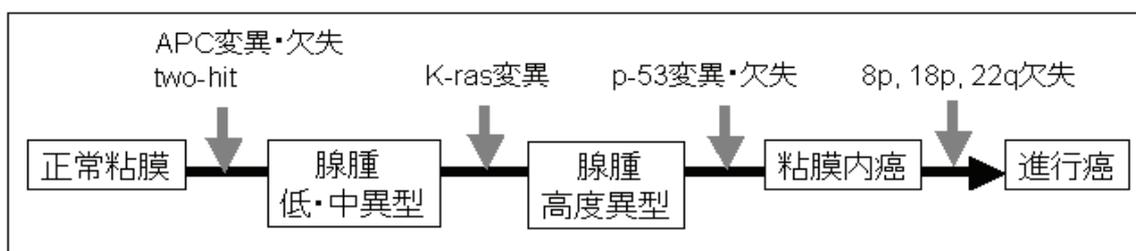


図1 大腸癌における多段階発癌モデル

大腸正常粘膜が進行がんになるまでには数種類の遺伝子の異常が蓄積されることが必要です。*APC* 遺伝子はがん抑制遺伝子のため、その不活化のためには対立遺伝子の双方に異常が起こることが必要です。これは Knudson の 2 ヒット説(two-hit theory)に従っています。

## 2) DNA 修復遺伝子の遺伝子検査

### (1) *hMLH1* と *hMSH2* 遺伝子検査

前述したように、HNPCC の生殖細胞系列における DNA ミスマッチ修復遺伝子異常の中では、*hMLH1* と *hMSH2* 遺伝子異常の頻度が高いため、両遺伝子を中心に遺伝子診断が行われています。解析は PCR-SSCP 法<sup>47</sup>でスクリーニングを行いシーケンスで塩基配列を決定します。ま

<sup>46</sup>生殖細胞変異：男性では精子、女性では卵子の遺伝子に変異が生じること。

<sup>47</sup>PCR-SSCP 法：DNA を PCR で増幅した後、1 本鎖に変性すると遺伝子の 1 塩基並びの違いだけで立体構造に変化が起きる。この立体構造の違いが電気泳動の移動度の違いとして現れるので、遺伝子変異の検出が可能となる。ただしこの方法は、変異を見つけるために大量処理をするスクリーニング法であり、塩基配列の決定法が最終的な確定手段となる。

た RNA 材料から cDNA<sup>48</sup>を作成して、解析する方法も行われています。これらの方法で解析された変異は、フレームシフト変異<sup>49</sup>、ナンセンス変異<sup>50</sup>、エクソンの欠損などであり、ほとんどの場合その遺伝子産物は、短小の役に立たないタンパク質になります。検査材料や検査時間は、前述した APC 遺伝子とほぼ同様です。

## 2) *hMLH1* 遺伝子のメチル化とその検出

*hMLH1* 遺伝子はプロモーター領域のメチル化による不活化が知られています。真核生物 DNA のメチル化は、特定 CpG 配列 (CG 配列, CpG アイランドと言う) の C (シトシン) が DNA メチラーゼによりメチル化され、メチルシトシンとなることです。CpG 配列は遺伝子のプロモーター領域に多く存在し、一般に転写<sup>51</sup>が活発に行われている領域はメチル化の程度は低く、転写が抑制されている領域は幅広くメチル化されています。つまり、遺伝子が高発現していればメチル化は少なく、発現していなければメチル化されている可能性が高くなります (図 2)。C (シトシン) は Bisulfite で処理することにより、T (チミン) に変化することができます。しかし、C がメチル化を受けたメチルシトシンは、Bisulfite で処理しても T に変化することができず C は保たれます。これを利用してメチル化、非メチル化を検出します。

---

<sup>48</sup>cDNA:mRNA の DNA コピーのこと。エクソン(翻訳領域)が連結した DNA 配列になっている。mRNA 配列を鋳型にして、逆転写酵素によって合成されるので、イントロン(非翻訳領域)を含んでいない。

<sup>49</sup>フレームシフト変異:DNA に 1 個または 3 の倍数でない数の塩基が挿入または欠失する突然変異。この変異によって、DNA の遺伝情報を伝える正常なコドンの読み枠にズレが生じる。その結果、塩基配列の途中でストップコドンができ、翻訳が途中で中断されるため正常なタンパクが合成されない。

<sup>50</sup>ナンセンス変異:ストップコドン(アミノ酸を規定していない 3 つの塩基の並び)ができる変異のことで翻訳終了を意味する。その情報でタンパク質合成が終了する。

<sup>51</sup>転写:DNA の遺伝子情報を mRNA に写し取る過程のこと。

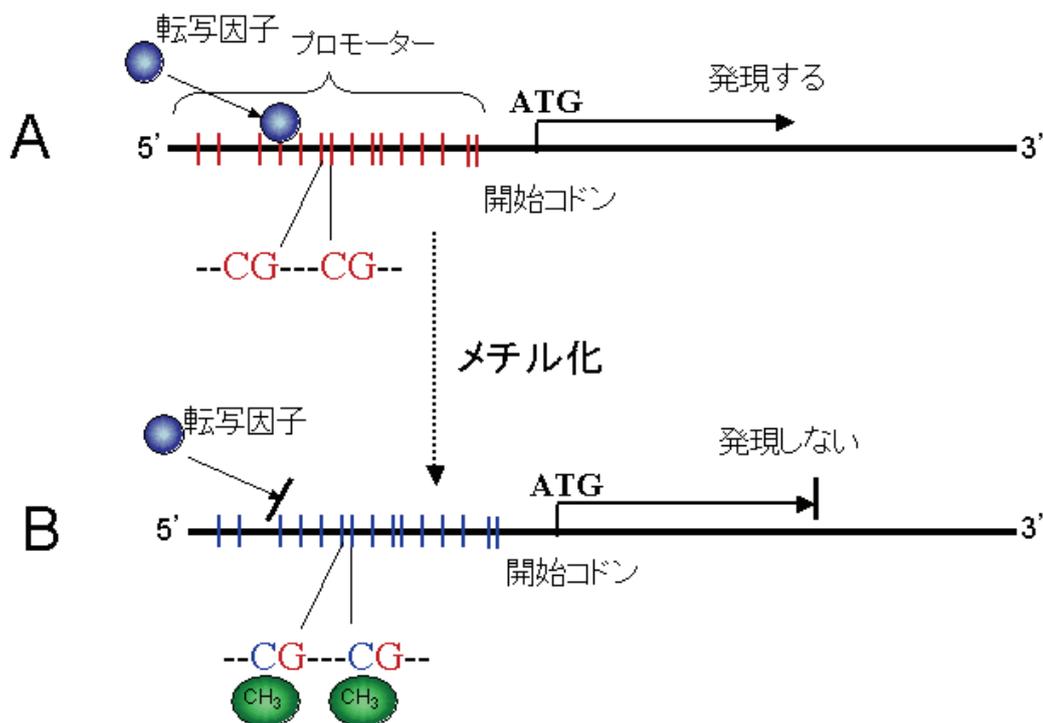


図2 プロモーター領域における CpG アイランドのメチル化

正常なメチル化の意味するところは、標的遺伝子の発現の制御にあります。非メチル化プロモーターに転写因子が結合することにより標的遺伝子は発現を誘導されますが(A), メチル化しているプロモーターには転写因子が結合できないため、標的遺伝子は発現されないことになります(B)。

現在行われているメチル化の検出方法は、Bisulfite-PCR-SSCP 法と MSP (Methylated DNA specific Primer)法<sup>52</sup>が多く行われています(図3)。検査結果を図4に示しました。図4のAは、SSCP 法でメチル化と非メチル化のアレル<sup>53</sup>を分離した結果を示しています。Bはそのシーケンス解析でメチル化した部分を確認した結果です。

<sup>52</sup>MSP (Methylated DNA specific Primer)法: 特異的なプライマーを用いてメチル化 DNA を検出するためのメチル化検出法の一つ。特異的プライマーの設計は、メチル化した場合と非メチル化の両方を設計する必要がある。最近では専用の設計ソフトがメーカーから手に入れることができる

<sup>53</sup>ヘテロ接合性とアレル: 両親由来の対立遺伝子の塩基配列がことなることをいう。対立遺伝子(アレル)とは、同一の遺伝子座に属して互いに区別される遺伝子を意味する。通常の実験では、AA, aa をホモ接合体、Aa をヘテロ接合体として表す。

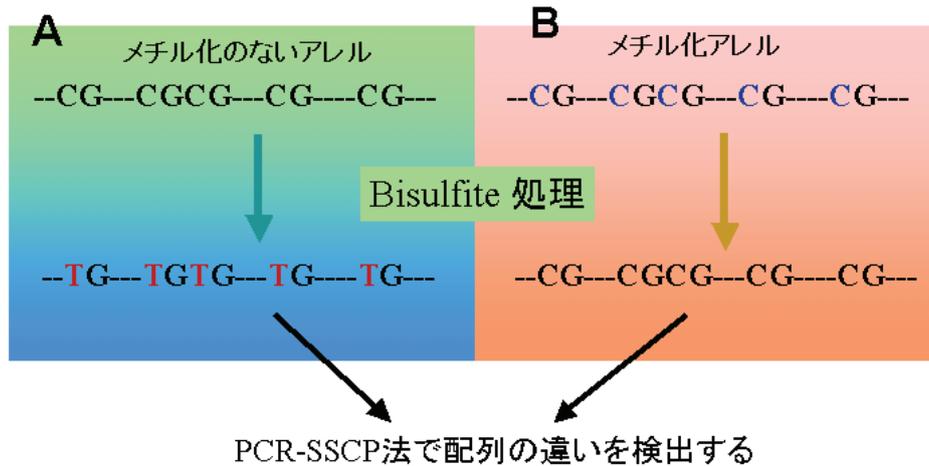


図 3 Bisulfite-PCR-SSCP 法によるメチル化アレルの検出原理

CpG アイランドにメチル化のないアレルは Bisulfite 処理によりシトシンはチミンに変化します(A)。しかし、メチル化しているシトシンはチミンに変化することができません(B)。この配列の変化を利用して、Bisulfite 処理後 PCR で増幅し SSCP 法でそれぞれのアレルを分離することが可能になります。

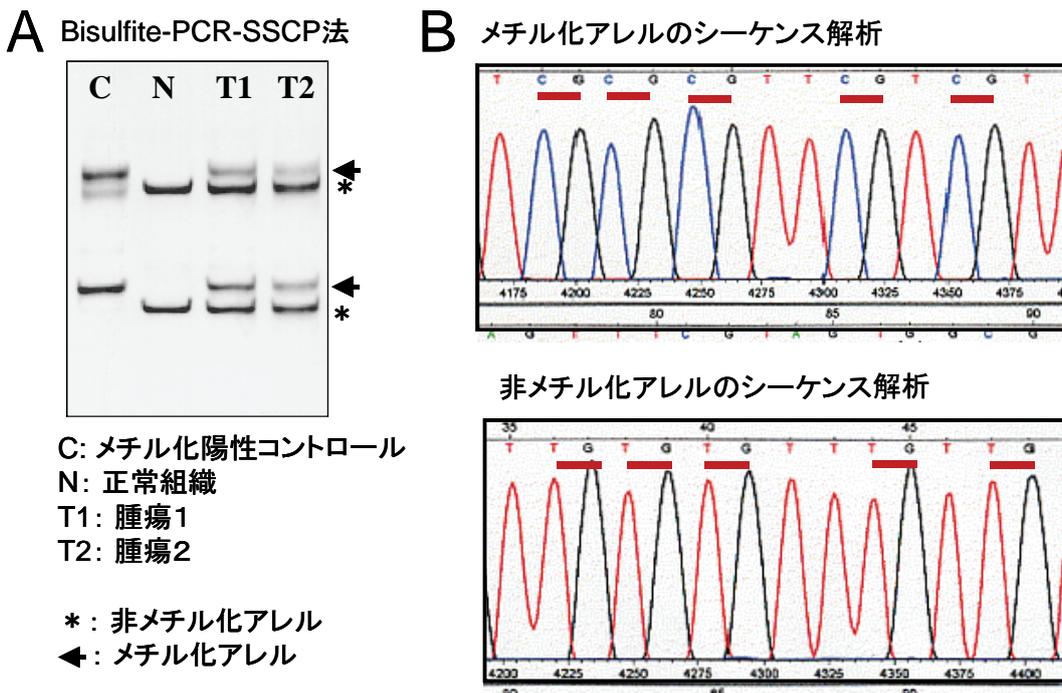


図 4 SSCP 法によるメチル化アレルの検出とシーケンス解析

SSCP 法の結果を示しています(A)。メチル化コントロールのバンドはメチル化のあるアレルであり、正常組織のバンドは非メチル化アレルの位置にあります。腫瘍組織中にメチル化アレルが存在すれば、正常組織も多少混在してしまうためにメチル化と非メチル化の両方のバンドが検出されます。腫瘍組織のそれぞれのバンドからシーケンス解析を行った結果を B に示してあります。B 上段の CpG アイランドの配列は「CG」で変化しませんが、下段の非メチル化は、「CG」の配列が「TG」に変化しています(CpG アイランドは赤線で示しています)。

### 3) マイクロサテライト不安定性 (MSI) と検査

#### (1) HNPCC と MSI

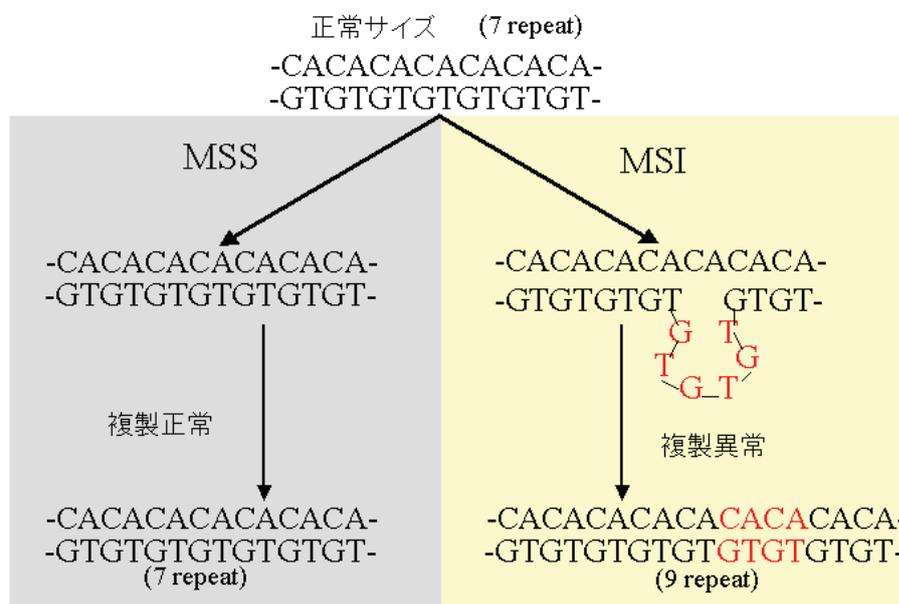


図 5 マイクロサテライト不安定性と安定性

MSIのできる過程の模式図を示します。CAの2塩基が7回繰り返されている正常配列をモデルにしています。右側のようにループ状に相補配列が起き、そしてDNA修復遺伝子の異常があった場合、これらを修復することができません。したがって、9回の繰り返し配列が形成されることとなります。これをマイクロサテライト不安定性と言います(MSI)。正常であれば左側のように、7回繰り返し配列が同じように複製されます(MSS)。

マイクロサテライト DNA は、単純な縦列繰り返し単位(1 から数塩基)からなる短い配列でヒトゲノム全体に存在します。1塩基の繰り返しはAまたはTの連続が一般的で、ゲノム全体の0.3%を占めます。2塩基の繰り返しは、CAおよびAGの連続でゲノム全体の0.8%を占めます。そして、3塩基および4塩基の繰り返しは比較的低頻度ですが、ヘテロ接合性<sup>54</sup>の高い多型マーカーとして使用されています。MSIの検出は、これらマイクロサテライトの反復回数異常の検出ということになります。大腸がん、子宮がん、胃がんなどの各種固形腫瘍の約10~20%程度に認められることが知られています。MSIの発生機序は、前述したDNA修復遺伝子の破綻により引き起こされるものと考えられ、*hMSH2*、*hMLH1*などの遺伝子異常を強く予想することができます。したがって、MSIはHNPCC患者で多く検出されています。MSIの発生機序を図5に示しました。

<sup>54</sup> ヘテロ接合性とアレル: 両親由来の対立遺伝子の塩基配列がことなることをいう。対立遺伝子(アレル)とは、同一の遺伝子座に属して互いに区別される遺伝子を意味する。通常の実験では、AA, aaをホモ接合体、Aaをヘテロ接合体として表す。

(2) MSI の検査

① マイクロサテライトマーカー

MSI 検査は、特に 2 塩基繰り返し部分の検出では、正常組織との比較が必須となるため、採取する検体は手術や生検で得られた正常部分と腫瘍部分の組織が必要となり、両者のコンタミネーションに注意して採取する必要があります。使用するマイクロサテライトマーカーの選択は、施設により異なりますが、マーカー例を表 4 に示しました。表の中で、D5S346, D2S123, D17S250, BAT25, BAT26 の 5 つのマーカーは、米国がん学会のワークショップで推奨されているマーカーです。MSI 判定基準は、マーカーのうち全てのマーカーが陰性検体をマイクロサテライト安定 (MSS: Microsatellite stable) とし、30% 以上のマーカー (11 マーカーであれば 4 マーカー以上) が陽性の場合を MSI-H (Microsatellite Instability-High), それ以下、すなわち、1 つか 2 つのマーカーで陽性の場合、弱陽性 (MSI-L: Microsatellite Instability-Low) と判定します。

表 4 マイクロサテライト解析のためのマーカー

Maker	Nucleotide repeat	Locus	PCR size(bps)
D5S346	(CA)26	5q21-5q22	130
D2S123	(CA)13 TA (CA)15	2p16	217
D17S250	(CA)24	17q11.2-17q12	163
BAT25	(A)25	4q12	125
BAT26	(A)26	2p16	120
TGFbIIR	(A)10	3p22	118
hMSH3	(A)8	5q11.2-q13.3	153
hMSH6	(C)8	2p21	94
BAX	(G)8	19q13.3-q13.4	94
MBD4	(A)10	3q21	140
MBD4	(A)6	3q21	50

表 4 に代表的な 11 種類のマイクロサテライトマーカーを示しました。判定基準は MSS: 0/11(全て陰性), MSI-L: 3/11 以下陽性, MSI-H : 4/11 以上陽性としています。通常の MSI 検出には、アメリカ癌学会で推奨した 5 種類のマーカーで十分です。また、1 塩基繰り返しマーカーはコドン内に存在していることが多く、それらの異常は直ちにその遺伝子に影響があることを意味しているので有用であると考えられています。

## ② 検査方法と結果

塩基配列(シーケンス)決定法<sup>55</sup>用ゲルを用いた解析と蛍光オートシーケンサーを用いた方法があります。前者は用手法で、後者は機械を用いた方法です。前者のゲルを用いた方法は、簡単な器具で行うことができますが、手順が複雑なため時間と経験が必要となります。一方後者の場合は、大量の検体を短時間での処理が可能であり結果にも客観性がありますが、機械や高価なランニングコストになります。両者の方法で解析した結果を図 6 に示しました。

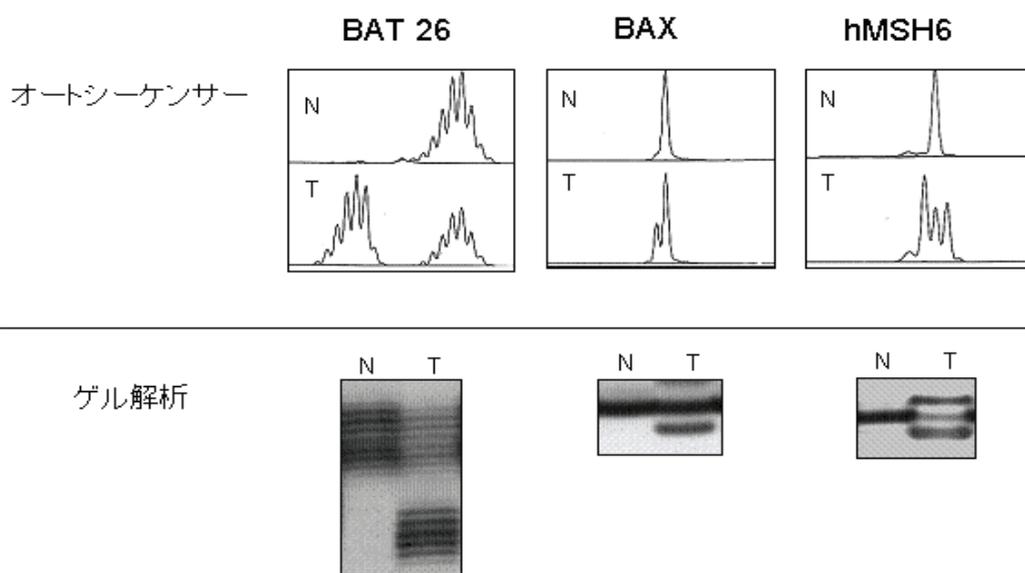


図 6 MSI の解析例

実際の MSI 解析結果を示しています。シグナル検出方法は、蛍光オートシーケンサーを用いた方法(上)とシーケンスゲルを用いた方法(下)の 2 種類があります。マーカーは、それぞれ BAT26, BAX, hMSH6 を用いました(N: 正常組織, T: 腫瘍部組織)。

図 6 は同じ検体を両方法で行った例を示しました。それぞれのマイクロサテライトマーカーに MSI のアレルが検出されています。BAT26 はアデニン(A)が 26 回繰り返された部分ですが、腫

<sup>55</sup>塩基配列(シーケンス)決定法: 文字通り、遺伝子を構成する DNA の並び方(塩基配列)を解析すること。調べたい遺伝子の部分を純粋に抽出し、DNA ポリメラーゼの反応を利用して、端から決定していく。

瘍部では短縮された約 18 回の繰り返し部分が検出されています。BAX<sup>56</sup>は正常ではグアニン(G)が 8 回の繰り返しですが、腫瘍部ではそれより1塩基少ない7回の繰り返しが見られます。そして、hMSH6 はシトシン(C)の 8 回の繰り返しですが、この症例では 1 塩基少ない 7 回の繰り返しアレルと 1 塩基多い 9 回の繰り返しアレルが検出されています。

#### 4. 検査の問題点と今後の課題

大腸がんのうち、家族性と診断されるものは 2~3%とされています。家族性大腸がんには、主に FAP と HNPCC があり、FAP は *APC* 遺伝子が原因遺伝子であり、HNPCC は MSI 検査から推測される DNA 修復遺伝子の異常やそのメチル化など、複数の遺伝子が関与していることはこれまで述べた通りです。一方、散发性大腸がんの約 80~90%に *APC*, *p53*, *K-ras* 遺伝子の異常が検出され、これらの遺伝子変異の蓄積が、がん化へとつながることが知られるようになりました。また、その大部分の症例は Loss of Heterozygosity (LOH)<sup>57</sup> というヘテロ接合性喪失によっても活性を失うことが知られています。これらの散发性大腸がんの発がん機序は、家族性大腸がん、特に FAP 患者の遺伝子変異を研究することによりしだいに明らかになってきました。これらの遺伝子蓄積による発癌経路として adenoma-carcinoma sequence というモデルが提唱されています。HNPCC や FAP のような家族性大腸がんの遺伝子診断には、家系調査やその診断基準などの臨床的診断が非常に重要です。臨床情報から振り分けられた数%の家族性大腸がんを疑う患者について遺伝子診断が行われます。しかし遺伝子診断は、これら臨床的に疑われた全ての患者に陽性になるとは限りません。その理由として考えられることは、スプライシング<sup>58</sup>異常など RNA などを使用しないと検出されない変異の存在、知られていない発がん遺伝子やその経路の存在、そして技術的な問題などが考えられます。このような臨床診断と遺伝子診断との不一致例をできるだけ減らすには、家族性腫瘍疾患の専門医師や看護師、検査技師の養成、

---

<sup>56</sup> BAX: 多型マーカーで、マイクロサテライトマーカーに分類される。BAT26 はアデニン(A)が 26 個、BAX はグアニン(G)が 8 個繰り返している。これらは MSI の検出に有用で、MSI の 80%以上に繰り返しの異常が検出される。

<sup>57</sup> Loss of Heterozygosity (LOH): 邦訳ではヘテロ接合性喪失と言う。ヘテロ接合体の遺伝子で、正常な方の対立遺伝子の一部に欠失が起こり、結果的にその遺伝子は機能しなくなる。がん抑制遺伝子機能異常のメカニズムとして注目されている。

<sup>58</sup> スプライシング: 真核細胞の DNA には、イントロンと呼ばれる介在塩基配列が存在している。エクソンだけのメッセンジャーRNA (mRNA) になるためには、イントロン部分を除かなくてはならない。イントロンを除いてエクソン同士を結合させることをスプライシングという。

専門外来の設置などが必要と思われます。つまり、胚細胞変異を検出するという観点から、専門外来で十分に時間をかけ患者に説明と同意を求めなければなりません。また、検査は信頼のおける方法と施設で施行されるようにしなければならないと思われます。さらに、家族性腫瘍患者は長期に渡る(場合によっては、数十年)フォローアップが必要になりますが、多くの施設の場合、検査費は研究費で行っているのが現状です。つまり、家族性腫瘍患者にとって専門医、技術者、専門施設の充実は必須のものと思われます。

#### 参考図書

- (1) 湯浅保仁ほか:家族性腫瘍, MOLECULAR MEDICINE 別冊, 中山書店, 東京, 1998
- (2) 緒方宣邦ほか:遺伝子工学キーワードブック, 羊土社, 東京, 2004
- (3) 菊池韶彦ほか:遺伝子, 東京化学同人, 東京, 1999

## 7 節 多発性内分泌腫瘍症 2 型・家族性甲状腺髄様がん

須貝幸子 財団法人癌研究会有明病院遺伝子診断部

### 1. はじめに

多発性内分泌腫瘍症2型 (multiple endocrine neoplasia type2: MEN 2)は, 甲状腺髄様がん と副腎の褐色細胞腫をはじめとして, いくつかの病変を合併します. MEN 2 は常染色体優性 遺伝による遺伝性の腫瘍で, 構成病変によって MEN 2A と MEN 2B に分類されています. 家族 性甲状腺髄様がん(familial medullary thyroid carcinoma: FMTC)は, 遺伝的に甲状腺髄様 がんのみを発症しますが, MEN 2 は甲状腺髄様がん と副腎の褐色細胞腫を中心にいくつかの病 変を合併します(表 1).

表 1 MEN, FMTC の分類と構成疾患

分類	局在	家族性	髄様がんの随伴疾患	悪性度
散発性	片葉	なし	なし	+++
MEN 2A	両葉	有	褐色細胞腫	++
MEN 2B	両葉	有	上皮小体機能亢進症	++++
			褐色細胞腫	
			粘膜神経腫	
			巨大結腸症	
			Marfan 様体型 <sup>59</sup>	
FMTC	両葉	有	副腎褐色細胞腫	+
			大腸憩室	
			なし	

FMTC: 家族内に4人以上の髄様がん患者があり, 褐色細胞腫・副甲状腺病変がない

(Molecular medicine 別冊(1998) 家族性腫瘍より一部改変)

<sup>59</sup>Marfan 様体型: クモ指症とも呼ばれる Marfan 症候群の体型の特徴が, 四肢が細く長いことから同様の体型を 示す場合に用いられる.

## 2. 原因遺伝子： *RET*

*RET* 遺伝子は、受容体<sup>60</sup>型チロシンキナーゼ<sup>61</sup>をつくる「がん遺伝子<sup>62</sup>」として同定され、多発性内分泌腫瘍症 2 型(MEN 2)、家族性甲状腺髄様がん(FMTC)の原因遺伝子です。一般的には、生殖細胞でシグナル伝達や増殖に関わるがん遺伝子の異常が起きると、体細胞変異とは異なり本来は個体として成長できません。しかし、*RET* 遺伝子の生殖細胞変異があっても変異がない健常者と同様に成長できるのは、*RET* 遺伝子が受容体タンパクとして、限定された細胞分化<sup>63</sup>・増殖を制御しているからと考えられます。現在同定されている家族性腫瘍の原因遺伝子の大部分は、がん抑制遺伝子や DNA 修復遺伝子で、がん遺伝子が原因遺伝子として診断に用いられているのは、今のところ *RET* 遺伝子だけです。なお、遺伝性乳頭状腎細胞がん<sup>64</sup>の原因遺伝子である *MET* 遺伝子もがん遺伝子ですが、一般的な診療として用いられていません。遺伝子異常の特徴として、ある一つの塩基が他の塩基に置き換わり、異なるアミノ酸が作られるミスセンス変異<sup>65</sup>であること、異常が限局していることが挙げられています。

## 3. 遺伝子診断

2001 年に国際グループによりコンセンサス・ガイドラインが出されました。表 2 は *RET* 遺伝子の変異部位により、甲状腺髄様がんのリスクレベルを 3 段階に分けたものです。前述したように、*RET* 遺伝子の変異は限局したミスセンス変異なので検出も容易です。また浸透率<sup>66</sup>は 100%な

---

<sup>60</sup>受容体:細胞外に面して細胞膜に存在し、生体物質や外部刺激等の信号を認識して、細胞に応答を引き起こすための構造。

<sup>61</sup>受容体型チロシンキナーゼ:上皮増殖因子、血管内皮増殖因子など各種の増殖因子自身がチロシンキナーゼ活性を有し、*erbB1*, *KIT*, *MET*などのがん遺伝子によって作られる。

<sup>62</sup>がん遺伝子:本来は発がんのために存在するのではなく、細胞の増殖や細胞分化の制御に重要な役割を担っているが、その異常や過剰な発現によりがん化を促進する性質を持つようになる。

<sup>63</sup>細胞分化:多細胞生物は 1 個の受精卵より発生し、分裂増殖と細胞の分化を繰り返し個体となるが、この過程で細胞が形態的、機能的な特徴を獲得していくこと(骨、皮膚、各種臓器などに変化)。

<sup>64</sup>遺伝性乳頭状腎細胞がん:同一家系内に複数の腎細胞がん患者を認め、病理学的に乳頭状の組織構築をもつ腎細胞がん。

<sup>65</sup>ミスセンス変異:遺伝子のアミノ酸に対応する3つの核酸(コドン)のうち、突然変異によりそのいずれかが変化して別のアミノ酸になること。

<sup>66</sup>浸透率:ある遺伝子変異を持っている人が生涯のうち病気(ここではがん)を発症する頻度のこと。保因者が発症する頻度。または、遺伝子型が表現型となる頻度。

ので、遺伝子診断の意義が高いといえます。そこで欧米では、甲状腺髄様がん、褐色細胞腫などの患者には積極的に遺伝子診断を行い、患者家族の保因者<sup>67</sup>(発症前)診断を取り入れています。また家族に保因者が発見されると、積極的に甲状腺全摘手術を行う予防的処置が行われています。さらに甲状腺髄様がん患者の *RET* 遺伝子検査を行わないことで訴訟になる場合もあるといわれます。家族歴がなく、一見散发性<sup>68</sup>と思われる甲状腺髄様がんにも *RET* 遺伝子変異が認められる症例がありますので、すべての髄様がん患者に *RET* 遺伝子検査を行うことを推奨されています。

表 2 コンセンサス・ガイドライン(甲状腺髄様がんのリスクレベル)

**レベル 1: コドン 609, 168, 790, 791, 804, 891 の変異**

5 才までに甲状腺全摘出を勧める者と 10 才までに全摘出をすればよいという  
2 つの見解に分かれている。  
カルシトニン負荷試験を行い異常値が得られたら全摘出を勧める場合もある。

**レベル 2: コドン 611, 618, 620, 634 の変異**

5 才までに甲状腺全摘出をすべきである。

**レベル 3: コドン 883, 918, 922 の変異あるいは MEN 2B**

生後 1 ヶ月までに甲状腺全摘出を行うのが望ましいが、生後 6 ヶ月までに  
甲状腺全摘出を行うべきである。

*RET* 遺伝子変異の部位により、甲状腺髄様がんのリスクレベルを3段階に表したガイドラインです。  
リスクレベルは1から3へと高くなり、3では、乳児の段階で甲状腺の全摘出を推奨されています。

甲状腺髄様がん患者は、臨床遺伝専門医がいる遺伝子診療外来などに紹介され、*RET* 遺伝子検査の説明を受けます。一般的には、遺伝子検査実施の同意が得られて遺伝子異常が発見されると、患者に未発症の家族の検査の意義を再度説明し、家族のカウンセリングに対する協力を依頼します。未発症の家族に十分なインフォームドコンセントを行なった後、保因者診断を施行します。患者家族のうち約半数は保因者で、患者の子供や孫の場合は発症が若年化するため、10 代、20 代で発症するケースが多くなります。文献的には、すでに 2 才や 6 才で微小ながんが認められたケースもあり、早期の検査と就学前の予防的全摘手術を行うべきとの意見もあります。しかし MEN 2A では、髄様がんが早く発育するものと、遅くて高齢までゆっくり発育する例もあり、後者のような場合は、小児期に全切除する必要がないという意見もありますが、臨床的な見極めをする基準が確立していません。

<sup>67</sup>保因者(キャリア): 病因となる遺伝子異常をアレルの一方に持っても、発症していない人のこと。

<sup>68</sup>散发性のがん: 遺伝的に伝播されて発症するのではなく、後天的に種々の原因で断続的に発症する一般的ながんのこと。

MEN 2の発症前遺伝子診断によって、遺伝子異常が発見されて保因者になると、超音波検査、カルシトニン値測定などの定期的な検診を受けるよう勧められます。日本では、保因者の発症前甲状腺全摘手術は行わず、超音波などの画像診断とカルシトニン値でフォローアップする場合があります。画像診断で腫瘍が発見されるか、カルシトニン値が上昇したときに全摘出をします。甲状腺の片葉にのみ腫瘍が検出されても、全摘出するという方針は日本においても変わらないようです(図1)。

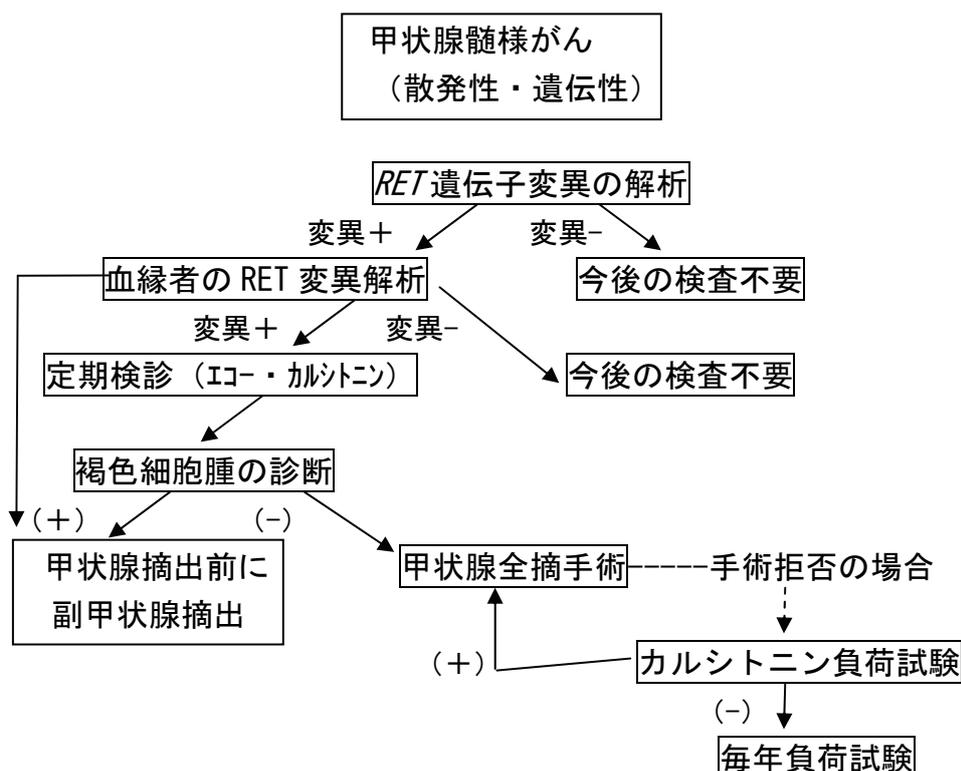


図1 髄様がん患者と血縁者に対する診断・治療の流れ

参考図書 (1) Molecular Medicine 別冊(1998)の一部改変

#### 4. 遺伝子検査

*RET* 遺伝子の検査方法は、DNA の塩基配列を直接解読していくシーケンス(塩基配列決定法)や、特定の塩基配列のみを切断する制限酵素<sup>69</sup>を使い、塩基配列の切断の有無による断片の長さの違いから判定する、制限酵素断片長多型<sup>70</sup>(Polymerase Chain Reaction-Restriction

<sup>69</sup>制限酵素: 2本鎖DNAの特定の塩基配列(4~8塩基対)を認識して切断する酵素のこと。遺伝子工学の実験には100種類くらい使用されている。

<sup>70</sup>制限酵素断片長多型(PCR-RFLP): PCRで増幅したDNA断片を制限酵素で処理し、点突然変異により塩基配列が変化した断片は切断される(またはその逆)ことで、断片長の違いを電気泳動で確認する手法のこと。多型とは、遺伝子の塩基配列に見られる個体差のこと。

enzyme Fragment Length Polymorphism: PCR-RFLP) などが使用されています。発端者<sup>71</sup>の DNA をシーケンスで解析して変異の場所が決定したら、家族の保因者診断は PCR-RFLP で一括して行うという方法もあります(図 2)。

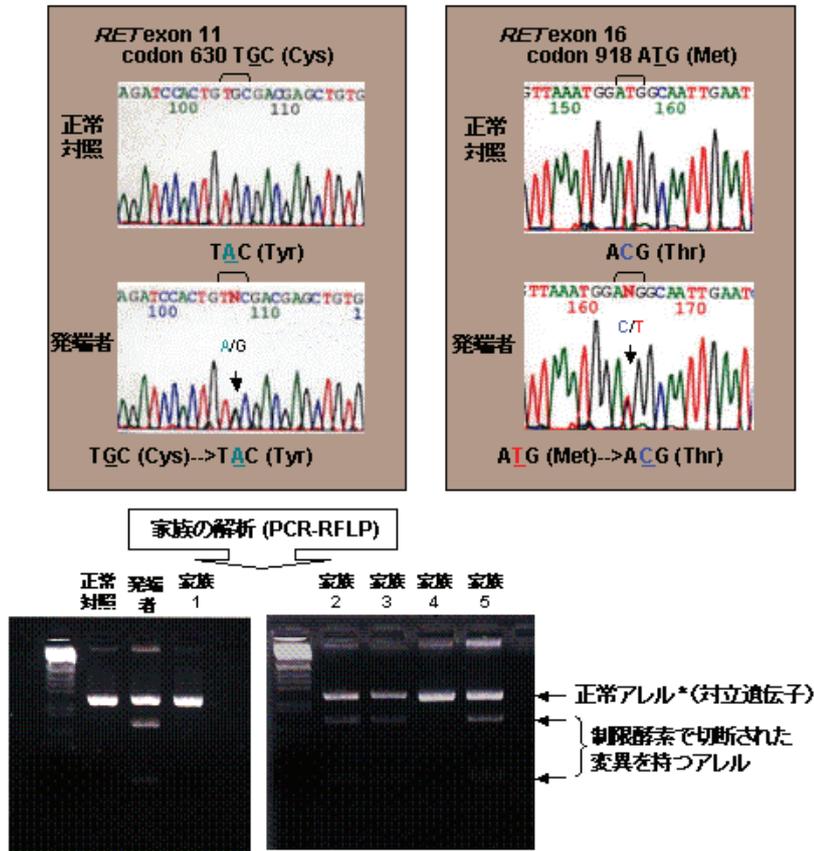


図 2 DNA シーケンス(上)と PCR-RFLP(下)の電気泳動パターン

図の左上は、ダイレクトシーケンスにより *RET* 遺伝子のエクソン 11, コドン 630 の TGC(システイン)が TAC(チロシン)に変わるミスセンス変異が認められた症例です。図の右上は、*RET* 遺伝子のエクソン 16, コドン 918 の ATG(メチオニン)が ACG(トレオニン)に変わるミスセンス変異が認められた症例です。下の写真は、PCR-RFLP 法を用いて、コドン 630 に変異が認められた発端者の家族の保因者診断を行った結果です。制限酵素(*Afa* I)で片方のアレルを切断された家族 2, 3, 5 は、一方の正常なアレルを含む3本の断片が確認され、発端者と同じ変異を持つことが同定されました。

<sup>71</sup>発端者：ある遺伝病の家系が見つかる発端となった遺伝形質を持つ人のこと。

以前はエクソン 10, 11, 16 を解析するのが一般的でした。RET 遺伝子の変異は、3 つのエクソンを解析することで遺伝子変異の検出が大部分カバーできるとされていたからです。しかし近年、エクソン 13~15 にもわずかですが変異が認められることが分かってきました(表 3)。非常に少ない頻度であっても、変異が存在する可能性を無視することはできません。エクソン 13~15 に変異を認めるときは、FMTC の場合が多いようです。前述のように、発端者の場合は散发性の甲状腺髄様がんと FMTC との臨床的鑑別は困難なことからも、エクソン 13~15 を含めた RET 遺伝子解析は重要といえるでしょう。

表 3 RET 遺伝子の変異部位

	エクソン	コドン	病型
	10	609,611,618,620	MEN 2A,FMTC
	11	630	FMTC
細胞膜	11	634	MEN 2A,FMTC
↓	13	768	FMTC
細胞内	13	778	MEN 2B
	13	790,791	MEN 2A,FMTC
	14	804	MEN 2A,MEN 2B,FMTC
	14	806 (804 と同時に)	MEN 2B
	14	844 (804 と同時に)	FMTC
	15	883,904	MEN 2B
	15	891	FMTC
	16	918	MEN 2B

### 1) ダイレクトシーケンス

被験者末梢血液より DNA を抽出し、被験者 DNA とともに発端者 DNA と健常者 DNA を用いて、目的の 6 つのエクソン領域を PCR 法で増幅します。増幅された PCR 産物をサイクルシーケンス<sup>72</sup>反応の鋳型とします。この反応を用いたダイレクトシーケンスは、PCR 産物をクローニング

<sup>72</sup> サイクルシーケンス:ジデオキシ法を基本原理とし、PCR を用いた塩基配列決定法のこと。微量の DNA から PCR を用いて蛍光標識した一本鎖 DNA を合成し、塩基配列を決定する。

<sup>73</sup>する必要がなく、DNA 合成酵素<sup>74</sup>のエラーを誤読する危険も少ないという利点があるので、遺伝子検査に多く用いられています。手順は、EDTA 入りの採血管に採取した抹消血液中の有核細胞からDNAを抽出し、そのDNAを鋳型としてRET 遺伝子の6つのエクソン(10, 11, 13, 14, 15, 16)をそれぞれ PCR 法で増幅します。増幅されたエクソンごとにサイクルシーケンス反応を行い、その反応液をシーケンサー(塩基配列読み取り装置)で電気泳動して塩基配列を決定します(図 2)。

## 2) PCR-RFLP

PCR-RFLP は、がん関連遺伝子の中では特に *RET* 遺伝子の解析に適しています。MEN 2 における *RET* 遺伝子変異は、前述の 6 つのエクソン内の、17 箇所の決まった部位に限局したミスセンス変異です。発端者のミスセンス変異の部位がシーケンスによって塩基配列上で同定され、その家族が同じ変異を持つかどうかを調べる際に、PCR-RFLP は精度よく、迅速に検出することが可能です。

手順は、DNA を鋳型として *RET* 遺伝子の6つのエクソンをそれぞれ PCR で増幅するのは、前記のシーケンスと同様です。その後、増幅した DNA を制限酵素処理して、アガロースゲル電気泳動を行います。一塩基の配列が異なる部位を特異的に認識する制限酵素は、認識部位で DNA を切断するため、長さの違う DNA 断片がアガロースの粒子で篩い分けされて、断片数と移動度が正常対象 DNA とは異なることが確認できます。保因者診断は、図 2 のように発端者の DNA 断片と正常対象 DNA 断片を並行して検査します。

## 5. 検査の問題点と今後の展望

診断上の問題点として、臨床的に明らかに MEN 2 であっても、遺伝子異常が検出されなかった症例が 1~2%あったという報告があります。この問題点は他の家族性腫瘍の原因遺伝子にもあり、遺伝子検査が陰性になった場合の説明には慎重を要します。

MEN 2 の遺伝子診断は、予防的治療効果の臨床的研究も進んでいて、家族性腫瘍の遺伝子診断中では最も確立されているといえます。しかし、先に述べたように解析面での問題点もあり、特に予防的治療に関する臨床側の見解もまだ統一されているとはいえません。患者やその家族

---

<sup>73</sup> クローニング: DNA の一部をベクター(プラスミドなど)に挿入し、目的の遺伝子を単一化すること。これにより、細菌を用い純粋な DNA 断片を多量に回収できる。

<sup>74</sup> Taq DNA 合成酵素: 耐熱性 DNA 合成酵素で、高熱に耐えられるので PCR による DNA の増幅反応に用いられる。

に最適な医療を提供するためには、検出率向上のための研究や情報収集と共に、十分な遺伝カウンセリングなどによって、遺伝子診療に携わるチーム全体の努力が望まれます。

参考図書

- (1) 高見博, 岩田洋介: MEN2: RET 遺伝子, MOLECULAR MEDICINE 別冊, 262-267, 宇都宮讓二監修, 中山書店, 東京, 1998
- (2) 松浦喜美夫ほか: 多発性内分泌腫瘍症2型, 特集遺伝性腫瘍 II, 日本臨床, 58, 437-1441, 2000