

主論文の要旨

**Somatic mosaicism for oncogenic *NRAS* mutations in  
juvenile myelomonocytic leukemia**

〔 若年性骨髄単球性白血病における *NRAS* 変異の体細胞モザイク 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻

発育・加齢医学講座 小児科学分野

(指導：小島 勢二 教授)

土居崎 小夜子

## 「緒言」

若年性骨髄単球性白血病 (Juvenile myelomonocytic leukemia ; JMML)は、年少児に発症する稀な骨髄異形成症候群/骨髄異常増殖症の一病型である。JMML の 70%の症例では、GM-CSF シグナル伝達系に關与する遺伝子である *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *NF1*, *CBL* の体細胞変異を認める。

「体細胞モザイク」は、一個の受精卵に起源をもちながら遺伝的に異なる細胞系列が、一個体の中に共存している状態と定義される。これまで癌遺伝子を含む多くの遺伝子変異の体細胞モザイクが様々な疾患で報告されているが、JMML における体細胞モザイク症例の報告はない。

今回我々は、2 例の JMML 患者で *NRAS* 体細胞モザイク (G12D, G12S)を証明した。

## 「症例および方法」

症例 1 は 10 ヶ月男児で、肝脾腫と単球増加を伴う白血球増多 (WBC 72,100/ $\mu$ L, Mon 13,300/ $\mu$ L) で発症した。骨髄単核球に *NRAS* G12D 変異を認めた。IFN- $\alpha$  および 6-MP 投与のみで寛解に至ったが、初診から 10 年以上経過して、血小板減少を認め、骨髄検査を行い、骨髄異型性症候群 (不応性貧血) と診断した。患者には、身体奇形の合併や腫瘍および先天異常の家族歴を認めなかった。症例 2 の 10 ヶ月男児は、肝脾腫と単球増加を伴う白血球増多 (WBC 31,800/ $\mu$ L, Mon 6,400/ $\mu$ L) で発症した。骨髄単核球に *NRAS* G12S 変異を認めた。無治療にて数か月のうちに寛解に至り、8 年以上寛解を維持している。この患者にも、身体奇形の合併や腫瘍および先天異常の家族歴は認めていない。

末梢血および骨髄由来の単核球、口腔粘膜擦過細胞、毛根および爪から genomic DNA を抽出し、*PTPN11*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL* 各遺伝子のダイレクトシークエンスを行った。パイロシークエンス法による *NRAS* 変異アレルの定量には、allelic quantitation software of the PSQ96 system (QIAGEN, Hilden, Germany)を用いた。また、症例 1 では、爪から抽出した DNA の *NRAS* ex2 PCR 産物を pGEM® -T Easy Vector Systems (Promega, Madison, WI, USA)を用いて TA クローニングし、ダイレクトシークエンスを行った。

## 「結果」

ダイレクトシークエンス法による解析 (Table 1, Figure1)で、症例 1 では、JMML および骨髄異型性症候群診断時の骨髄単核球で *NRAS* G12D 変異を認めた。同じ変異が口腔粘膜や爪でも確認されたが、変異アレルの signal は単核球よりも低かった。症例 2 では、骨髄単核球、口腔粘膜および左手爪で *NRAS* G12S 変異を認めたが、口腔粘膜および左手爪の変異アレルの signal は単核球よりも低かった。両患者の両親および同胞の末梢血単核球では変異アレルは検出されなかった。

パイロシークエンス法による定量的変異解析 (Table 1, Figure1)では、組織により変異アレルの頻度が異なった (症例 1: 骨髄単核球, 50%; 爪, 24%; 口腔粘膜, 43%;

毛根 5%。症例 2: 骨髄単核球, 48%; 左手爪, 26%; 右手爪, 13%; 左足爪, 8%; 右足爪, 3%; 口腔粘膜, 21%。)

症例 1 の爪 PCR 産物のクローニングでは、15 クローン中 4 クローン(27%)に変異アリルを認めた。

#### 「考察」

JMML 患者では GM-CSF 受容体下流のシグナル伝達系である RAS 経路の遺伝子群に、体細胞変異や胚細胞変異が報告されていたが、今回初めて、RAS 経路遺伝子の体細胞モザイクを JMML 患者で証明した。

RAS 経路遺伝子の胚細胞変異は、Noonan 症候群および Noonan 類縁疾患に類似の身体奇形を伴うとされるが、NRAS および CBL の胚細胞変異をもつ JMML 患者でも特徴的な身体奇形が報告されている。我々の経験した症例では、身体奇形や発達異常は認めていないが、今後も慎重な経過観察(特に腫瘍の発生に関して)が必要である。

JMML は一般的に、予後不良で造血幹細胞移植が必要とされる疾患である。しかし近年、遺伝子型によって様々な臨床経過を取りうるようになってきた。我々や他の研究グループから、PTPN11 の体細胞変異をもつ JMML 患者は NRAS および KRAS 変異をもつ患者に比べて予後不良であることが報告されている (*Pediatr Res.* 2009;65(3):334-340, *J Clin Oncol.* 2010;28(11):1919-1927)。我々の経験した NRAS 体細胞モザイクの症例は、2 例とも長期に無治療で寛解を維持した。PTPN11 の胚細胞変異をもつ JMML 患者と同様に、RAS 変異の体細胞モザイクをもつ JMML 患者では緩徐な臨床経過をたどる可能性が示唆された。今後、多数例でモザイクの有無と予後との関係についての検討を行う予定である。

#### 「結語」

NRAS 変異をもつ JMML 患者 2 例で、ダイレクトシーケンス法、パイロシーケンス法および TA クローニング法を行い、両親が変異アリルをもたず、患者の変異アリル頻度が組織により異なることから、体細胞モザイクを証明した。