

主論文の要旨

**Comprehensive analysis of genetic alterations and  
their prognostic impacts in adult acute myeloid  
leukemia patients**

〔 成人急性骨髄性白血病における包括的な遺伝子変異解析と  
予後に与える影響 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻  
病態内科学講座 血液・腫瘍内科学分野

(指導：清井 仁 教授)

木原 里香

## 【緒言】

急性骨髄性白血病 (AML) は臨床的にも遺伝子学的にも多様な疾患である。予後予測因子として染色体核型が用いられているが、予後中間群、特に、その多数を占める正常核型 AML (CN-AML) は臨床的に多様であることが報告されてきた。2010年に European leukemiaNet (ELN) は、染色体核型と遺伝子変異によって新たなからリスク分類を提唱した。CN-AML を *FLT3*-ITD, *NPM1*, *CEBPA* 変異の有無により、予後良好群と中間リスク(IR)-I 群に分類した。近年、AMLにおいて、エピジェネティック修飾因子、コヒーシン複合体、RNA スプライシング因子にも遺伝子変異を認めることが報告されている。しかし、それらの予後に与える影響は十分に検討されていない。今回我々は日本成人白血病治療共同研究グループ (JALSG) AML201 試験登録症例を対象として包括的な遺伝子変異解析を行い、その予後に与える影響について検討した。

## 【対象と方法】

JALSG AML 201 試験に登録された、急性前骨髄球性白血病(APL)を除く de novo AML の中から遺伝子解析の同意を得て残余検体の保存が行われていた 197 例を対象とした。観察期間の中央値は 32.5 ヶ月であった。これまでに骨髄系腫瘍において遺伝子変異が報告されている 51 遺伝子において、Illumina HiSeq を用いてターゲットシーケンスを行い、検出された変異をダイレクトシーケンス法で確認した。*FLT3*-ITD 変異、*MLL*-PTD 変異は従来の PCR 法を用いて検索を行った。

## 【結果】

### a) 染色体異常および遺伝子変異の頻度

染色体核型は 72 例 (36.5%) が正常核型で、*t*(8;21)(q22;q22) が 41 例、*inv*(16)(p13q22) が 14 例、複雑核型が 16 例であった。染色体分析の結果から、改訂 MRC リスク分類で予後良好群が 55 例 (27.9%)、予後中間群に 100 例 (50.8%)、予後不良群に 23 例 (11.7%) が含まれた (表 1)。

検索した 51 遺伝子の中で 44 遺伝子に計 505 変異を認めた。症例の 10% 以上に変異を認めたのは、*FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*, *DNMT3A*, *KIT* の 5 遺伝子のみであった (図 1a)。1 症例あたり平均で  $2.56 \pm 0.11$  変異を認め、正常核型においては 1 例あたり  $3.18 \pm 0.16$  変異と、染色体異常を持つ症例 (1 例あたり  $2.10 \pm 0.15$  変異) より多くの遺伝子変異を認めた ( $P < 0.0001$ ) (図 1b)。

機能別にみると Class I 変異を 116 例 (58.9%)、Class II 変異を 138 例 (70.1%)、エピジェネティック修飾因子の遺伝子変異を 91 例 (46.2%) に認めた。コヒーシン複合体の遺伝子変異を 22 例 (11.2%)、BCOR ファミリーの遺伝子変異を 17 例 (8.6%)、NCOR ファミリーの遺伝子変異を 22 例 (11.2%)、スプライソームの遺伝子変異を 9 例 (4.6%) に認めた (図 1c)。

### b) 染色体核型と遺伝子変異の関係

*KIT*変異は染色体予後良好群に有意に多く認め、*FLT3*-ITD、*NPM1*、*CEBPA* および *DNMT3A* 変異は予後中間群、特に正常核型の症例に優位に認められた(図 2)。*BCORL1*および *TP53*変異は予後不良群に認め、*TP53*変異は複雑核型に多く認めた。*PHF6*変異も複雑核型に多く認めた。

c) 遺伝子変異の重複

Class I 変異、Class II 変異、エピジェネティック修飾因子の遺伝子変異は高頻度に認められるものの、コヒーシ複合体や *BCOR* ファミリー、スプライシング因子など他の機能的なグループの遺伝子変異と重複して存在していた。これらの遺伝子変異は協調して AML の病態に関与していることが示唆された (図 1d)。

d) 遺伝子変異の予後に与える影響

単変量解析により *TP53* 変異、*MLL*-PTD 変異、CBF 白血病以外、*RUNX1* 変異、*FLT3*-ITD 変異、*DNMT3A* 変異が OS に対して予後不良因子として抽出された。多変量解析によって、*TP53* 変異(HR: 14.803, 95% CI: 6.259-35.009, P<0.0001)、*MLL*-PTD 変異 (HR: 2.853, 95% CI: 1.4017-5.810, P=0.0039)、CBF 白血病以外(HR: 2.353, 95% CI: 1.342-4.132, P=0.0028)、*RUNX1* 変異 (HR: 1.965, 95% CI: 1.054-3.663, P=0.0336)が OS に対して独立した予後不良因子として抽出された(表 2)。

e) ELN リスク分類の再分類

ELN リスク分類を用いて 197 例の予後層別化が可能であったが、IR-I と予後不良群の全生存期間 (OS) が同等であった。

このため、それぞれの群において、予後層別化に寄与する遺伝子変異に関して検討した。CBF を除く予後良好群においては *DNMT3A* 変異が、IR-I 群においては *MLL*-PTD 変異が IR-2 群においては *GATA2*変異が、予後不良群においては *TP53* 変異がそれぞれ予後不良因子として抽出された(図 3)。

これらの変異を用いて ELN リスク分類をもとにした予後層別化を試みた。予後良好群で *DNMT3A* 変異を有する CN-AML を IR-I 群に、*MLL*-PTD 変異を有する CN-AML を予後不良群に分類することで、OS の層別化が可能であった(図 4b)。さらに、*TP53* 変異を有する AML を最も予後不良群とすることで、より詳細に層別化が可能となった(図 4d)。

## 【考察】

成人 AML197 例において 44 の遺伝子に 505 変異を同定した。10%以上の頻度で変異を認めたのは 5 遺伝子のみで既報告の通りであった。

CN-AML では 1 症例あたりの変異の数が多く、*RUNX1-RUNX1T1* や *CBFB-MYH11* を有する白血病では変異の数が少なかった。これらの転座が白血病発症に強力に関与していることが示唆された。急性骨髄性白血病において、遺伝子変異と染色体核型を用いて、予後層別化が可能であった。予後に与える影響が既報告と異なる遺伝子変異もあり、より大規模なコホートでの検討の必要性が示唆された。

**【結語】**

成人 AML197 例において包括的な遺伝子変異解析を行い、その予後に与える影響を明らかにした。*DNMT3A*, *MLL-PTD*, *TP53* 変異の有無により ELN リスク分類のさらなる層別化が可能であった。