

主論文の要旨

**Mutation analysis of therapy-related  
myeloid neoplasms**

〔治療関連骨髄性腫瘍における遺伝子変異解析〕

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)

西山 誉大

## 【緒言】

治療関連骨髄性腫瘍 (t-MN) は、悪性腫瘍に対する化学療法や放射線治療を施行した後に発症する急性骨髄性白血病 (AML) または骨髄異形成症候群 (MDS) であり、WHO分類においてはAMLのサブグループに分類される。遺伝子解析の進歩によりt-MNの発症基盤となる特徴的な分子異常や前治療特異的な遺伝子変異が報告されているが、未だそのメカニズムについては明らかとなっていない。

本研究では、t-MNの分子異常解析を実施するとともに、一次腫瘍に遡って、両者の発症に共通する分子異常の有無について検討した。

## 【対象および方法】

13例のt-MN腫瘍細胞より抽出したDNAを用いて造血器腫瘍で高頻度に認められる54遺伝子について変異解析を行った。さらにリンパ系腫瘍を一次腫瘍とする3例については、一次腫瘍、正常細胞より抽出したDNAも併せて、エクソーム解析を行い、経時的に遺伝子変異の推移を検討した。すべての実験において扱った患者検体はヘルシンキ宣言に準拠した院内の倫理委員会で承認された同意書を用いて同意の取得を行った。

## 【結果】

### t-MN患者の臨床的特徴

一次腫瘍に対し使用された化学療法としてはアルキル化剤を含むものが13例中9例であった。t-MNのうちわけとしてはMDSが9例、慢性骨髄単球性白血病 (CMML) が2例、AMLが2例であった。11例が何らかの染色体異常を有し、うち8例は3つ以上の染色体異常を伴う複雑核型であった (Table 1)。

### t-MNに高頻度でみられる遺伝子変異

TP53、TET2遺伝子変異がそれぞれ6例に認め最も高頻度に認められる遺伝子異常であった。また、エピジェネティクスの状態に影響を与える遺伝子 (TET2, DNMT3A, IDH2, EZH2) の変異が、8例と高頻度に認められた。一方、初発未治療AMLに高頻度に認められる細胞増殖の促進に関与する遺伝子変異は、PTPN11遺伝子変異を1例にのみ認めた (Table 2)。

### リンパ系腫瘍に対する治療後に、t-MNを発症した3例のエクソーム解析

#### ① 多発性骨髄腫 (MM) の治療後、MDSを発症した症例

MM細胞ではSF3B4、DNMT3Aなどを含む24種類の遺伝子に変異が認められた。MDSではTP53、TET2などを含む28の遺伝子変異が認められた。これらの遺伝子変異は造血器腫瘍細胞に高頻度で認められる遺伝子変異であるが、MM細胞、MDS細胞に共通して認められる遺伝子変異は同定されず、また、寛解時の正常血液細胞においても検出されなかった (Figure 1)。

#### ② 濾胞性リンパ腫 (FL) の治療後、CMMLを発症した症例

FLではALKなどを含む25の遺伝子変異が、CMMLではZRSR2やEZH2を含む27の

遺伝子変異が認められ、両者共通する遺伝子変異として*TET2*遺伝子変異が認められた (Figure 2A)。*TET2*遺伝子変異は、患者頬粘膜より採取したDNAでは認められず、体細胞変異であることが確認された (Figure 2B)。本症例のFL細胞は*BCL2-JH3*遺伝子の再構成を伴っており、腫瘍細胞特異的な塩基配列を指標として高感度にFL細胞を同定することが可能である。末梢血幹細胞およびCMML細胞では*BCL2-JH3*遺伝子の再構成が検出されず、これら細胞にはFL細胞の混入は認めなかったが、*TET2*遺伝子変異は正常末梢血幹細胞にも同定された (Figure 2C)。

### ③ FLの治療期間中にMDSを発症した症例

FLでは*BCL2*などを含む39の遺伝子変異が、MDSでは*TET2*を含む14の遺伝子変異が同定された (Figure 3A)。本症例では、FLおよびMDS細胞に共通する体細胞変異は認められなかったが、*c-MYB*の404番目のセリン以降が欠失する遺伝子変異がgermlineに認められた (Figure 3B)。

## 【考察】

本研究では、t-MNの分子病態の解析を行った。t-MNでは、初発未治療のAMLやMDSと異なり、*TP53*遺伝子やエピジェネティクス関連遺伝子の変異が高頻度に認められた。germlineの*TP53*変異がt-MNの発症に関与することは報告されているが、今回6例に認められた*TP53*変異は全て体細胞変異であり、他に*DDX41*や*ANKRD26*といった骨髄性腫瘍の発症に関与するgermlineの遺伝子変異も認められなかった。一方で、悪性リンパ腫の治療後にt-MNを発症した2例においてエクソーム解析を行った結果、一次性腫瘍と二次性腫瘍に共通する遺伝子変異の存在が同定され、症例③では白血病発症に関連する*C-MYB* 遺伝子のgermline レベルでの変異が検出された。これは、germline 変異を有することによって、複数の造血器腫瘍が発症した可能性を示唆している。

また、症例②では一次性腫瘍とt-MNに加えて、末梢血幹細胞においてもエピジェネティクス関連遺伝子である*TET2*変異が共通して検出され、正常造血幹細胞レベルで既に*TET2*遺伝子変異を有するInitiating cloneが存在し、更なる遺伝子変異の蓄積によってFL、CMMLが発症したと考えられる。しかしながら、今回同定された*TET2*遺伝子変異は、加齢に伴うback ground変異によるものか、何らかの要因によって引き起こされたものかについては、一次腫瘍発症前の検体が得られないために結論を得ることはできず、更なる検証が必要である。

これらの結果より、t-MNの発症機構には、t-MN自身が持つ遺伝子の不安定性に加えて、複数の要因による遺伝子変異を有するクローンの存在が関与することが示唆された。

## 【結論】

t-MNでは、初発未治療のAMLやMDSとは異なり、*TP53*遺伝子やエピジェネティクス関連遺伝子の変異が高頻度に認められた。また、悪性リンパ腫の治療後にt-MNを発症した2例において、一次性腫瘍と二次性腫瘍に共通する遺伝子変異としてそれぞれ

*TET2*、*MYB*変異の存在が同定された。これらの遺伝子変異は、白血病の発症・進展との関連が報告されており、造血器腫瘍の発症基盤となる**Initiating** 変異としての機能解析が今後必要である。