

主論文の要旨

**Clinical significance of *ASXL2* and *ZBTB7A*
mutations and C-terminally truncated *RUNX1-
RUNX1T1* expression in AML patients with t(8;21)
enrolled in the JALSG AML201 study**

JALSG AML201 研究に登録された t(8;21)陽性急性骨髄性白血病
患者における *ASXL2*、*ZBTB7A* 遺伝子変異と C 末端欠損
RUNX1-RUNX1T1 発現の臨床的意義

名古屋大学大学院医学系研究科 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)

川島 直実

【緒言】

染色体異常 t(8;21)もしくは inv(16)/t(16;16)を有する急性骨髄性白血病(Core-binding factor-AML, CBF-AML)は、本邦で成人 AML 患者の約 25%を占め、予後良好群に分類されているが、約半数の患者で再発が問題となる。また、染色体転座の結果生じる RUNX1-RUNX1T1 および CFBF-MYH11 融合蛋白のみでは白血病化を引き起こさず、付加的遺伝子変異が白血病発症に必要と報告されている。さらに、*RUNX1-RUNX1T1* 転写産物の選択的スプライシングアイソフォームである C 末端欠損型 *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1-ETO9a*, *AE9a*)も白血病の発症に寄与しているという報告があるが、その発現と遺伝子変異との関わりについては明らかでない。この研究では、本邦の t(8;21)陽性 AML 患者における、近年同定された *ASXL2*、*ZBTB7A* 遺伝子変異および *AE9a* 転写産物の臨床的意義について検討した。

【対象および方法】

成人 de novo AML 患者を対象とした寛解導入療法と地固め療法の多施設共同ランダム化比較試験である JALSG AML201 研究に登録した t(8;21)陽性 AML 患者 41 例および inv(16)陽性 AML 患者 14 例の骨髄検体を用いて、*ASXL2* 遺伝子のエクソン 12-13 領域と *ZBTB7A* 遺伝子のエクソン 2-3 領域のサンガーシーケンス解析を行った。この患者コホートのうち t(8;21)陽性 AML 患者 23 例の *AE9a* mRNA をリアルタイム PCR 法により定量した。当該症例における 51 遺伝子の変異解析結果を用いて、これらの遺伝子変異ならびに *AE9a* 発現量と相関する遺伝子変異について解析した。

【結果】

ASXL2 変異を 14/41 例 (34.1%)、t(8;21)陽性 AML にのみ認めた (図 1)。変異の内訳は 13 例のフレームシフト変異と 1 例の一塩基置換変異を認め、エクソン 12 が 8 例、エクソン 13 が 6 例だった。*ASXL2* 変異陽性症例は野生型症例と比較し診断時の白血球数が高く (中央値 12400 vs. 7100 / μ L、 $P=0.04$)、染色体検査においては性染色体欠失の合併が少なかった (33% vs. 76%、 $P=0.01$)。*ASXL2* 変異陽性症例と野生型症例の 3 年全生存率はそれぞれ 71.4%、81.5% ($P=0.64$)、3 年無病生存率は 66.7%、52.0% ($P=0.57$) と *ASXL2* 変異陽性は野生型と比較し、予後に有意な影響を及ぼさなかった。

ZBTB7A 変異は 4/41 例 (9.8%)、t(8;21)陽性 AML にのみ認めた (図 1)。内訳は、N 末端の BTB 領域の機能喪失が推定される 2 例のフレームシフト変異と、C 末端の zinc finger 領域の機能の変化が推定される 1 例の一塩基置換および 1 例のフレームシフト変異だった。*ZBTB7A* 変異陽性症例と野生型症例の 3 年全生存率はそれぞれ 50.0%、81.1% ($P=0.15$)、3 年無病生存率は 25.0%、60.6% ($P=0.14$) と *ZBTB7A* 変異陽性は野生型と比較し、予後に有意な影響を及ぼさなかった。

急性骨髄性白血病に関連するその他の 51 遺伝子のうち、*KIT* 変異は *ASXL2* 変異 (36%)、*ZBTB7A* 変異 (75%) に高頻度に合併していた。CBF-AML に高頻度に変

異が報告されている *FLT3*、*NRAS* 遺伝子変異と *ASXL2* 変異、*ZBTB7A* 変異には有意な相関関係は認めなかった。*ASXL2* 変異はその他のクロマチン制御遺伝子変異の合併を多く認めたが ($P=0.02$)、*ASXL1* とは排他的関係にあった。*ZBTB7A* 変異に有意に合併している遺伝子変異は認めなかった。

AE9a 転写産物は 18/23 例 (85.7%) に認めた。*GAPDH* 発現量に対する *AE9a* 相対発現量の中央値は 0.15 (0–31.6) であった。この *AE9a* 相対発現量 0.5 をカットオフとした *AE9a* 高発現群 (9 例) と低発現群 (14 例) では、患者背景や寛解到達率 ($P=0.24$)、全生存 ($P=0.26$)、無病生存 ($P=0.12$) に有意差を認めなかった。これらの症例において認めた遺伝子変異の有無と *AE9a* 発現量を比較すると、コヒーシン複合体遺伝子変異 (*RAD21*、*SMC1A*、*SMC3*、*STAG2*) を有する症例において *AE9a* は高発現を認めた (図 2、 $P=0.03$)。

【考察】

本研究では、過去の報告と一致し *ASXL2* 遺伝子、*ZBTB7A* 遺伝子ともに t(8;21)陽性 AML にのみ変異を認め、inv(16)陽性 AML には変異を認めなかった。*ASXL2* 変異の頻度は海外の報告 (16.7–22.7%) と異なり、本邦のコホートでは 34.1%と高頻度だった。一方、*ZBTB7A* 変異 (9.8%) は同等の頻度で確認された。本研究の *ASXL2* 変異陽性症例では有意に診断時白血球数が高値であり、過去の報告と同様であった。染色体異常との関連については、*ASXL2* 変異と del(9q)との相関が過去に報告されているが、本邦のコホートでは認められず、一方 *ASXL2* 変異陽性症例は性染色体欠失合併が有意に少なかった。*ASXL2* は今回解析を行ったその他の 51 遺伝子の中で、クロマチン制御遺伝子と変異の重複が多かった。しかし既報と同様に *ASXL2* は *ASXL1* 変異とは排他的であった。これは *ASXL1* と *ASXL2* では複数の共通するドメインを有していることから同じ変異獲得機序が存在することが示唆された。本研究では、*ASXL2* 変異、*ZBTB7A* 変異ともに予後には有意な影響を及ぼさなかった。特に *ZBTB7A* 変異は本研究において陽性例が少数であったためより大規模なコホートにおける症例数を増やした解析が必要である。

t(8;21) 陽性 AML において *AE9a* の高発現と白血球数高値、*KIT* 変異陽性との関連が過去に報告されているが、本研究では認めなかった。一方、本研究では *AE9a* 高発現とコヒーシン複合体遺伝子変異と関連が示唆された。コヒーシン複合体は細胞分裂における染色体の分離を調節していること、コヒーシン複合体遺伝子変異は AML のクローン進化の過程において後期に獲得される変異と考えられていることから、コヒーシン複合体の機能喪失が *RUNX1-RUNX1T1* 転写産物の C 末端欠損、すなわち *AE9a* の高発現をきたし t(8;21)陽性 AML の白血病化に関与している可能性が示唆された。本研究では、*AE9a* 高発現と予後に有意な相関は認めなかった。

【結語】

本邦の CBF-AML において、*ASXL2*、*ZBTB7A* 遺伝子変異は t(8;21)陽性 AML で

高頻度に認め、inv(16)陽性 AML では認められず、t(8:21)陽性 AML の病態に関与している可能性が示唆された。コヒーシン複合体による *AE9a* 高発現の機序についてはさらなる検討が必要である。