

機関リポジトリ登録用論文の要約

論文提出者氏名	成育科学領域領域小児病態学教育研究分野 氏名 花田勇
<p>(論文題目)</p> <p>Gene alterations involving the CRLF2-JAK pathway and recurrent gene deletions in Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia in Japan (本邦のダウン症候群関連急性リンパ性白血病における CRLF2-JAK 経路の遺伝子異常および白血病関連遺伝子の欠失)</p>	
<p>(内容の要約)</p> <p><u>背景、目的</u></p> <p>Down 症候群 (DS) の小児は、健常児より高率に急性リンパ球性白血病 (acute lymphoblastic leukemia: ALL) を発症することが知られている。DS 患者では健常人に比べて抗がん剤に対する認容性が低く、治療関連死の頻度が高いことが問題となっており、分子標的治療のような毒性の低い治療の開発が待たれている。</p> <p>最近、<i>JAK2</i> の活性化変異が DS 関連 ALL (DS-ALL) の約 20%程度で認められることが報告された。またこれに引き続き、サイトカインレセプター的一种である <i>CRLF2</i> の高発現が DS-ALL の 50-60%に認められることが報告された。さらに、<i>CRLF2</i> の高発現が認められる症例の大半で性染色体の部分欠失により <i>P2RY8-CRLF2</i> 融合遺伝子が形成されていることも明らかとなった。<i>CRLF2</i> の活性化型変異も DS-ALL の数%に認められ、<i>CRLF2</i>-<i>JAK</i> シグナル伝達経路が DS-ALL の発症に深く関わっている可能性が示唆された。現在、<i>JAK</i> 阻害薬は原発性骨髄線維症において臨床応用が進められており、治療関連死の頻度が高い DS-ALL において新たな治療法となりうる可能性がある。しかし、アジア諸国でのこれら遺伝子異常についての報告は非常に少ないため、我々はその頻度を解析した。</p> <p>また一方で、DS-ALL の 20-30%で <i>IKZF1</i> の欠失が認められ、<i>IKZF1</i> 欠失例は予後不良であることが最近報告された。<i>IKZF1</i> と同様に ALL の発症に関わるとされる遺伝子群についても DS-ALL での頻度や予後について欧米での解析が進められており、今回我々はその点も含め解析を試みた。</p> <p><u>方法</u></p> <ol style="list-style-type: none"> ① 使用検体：1987 年から 2011 年に本邦多施設にて診断治療された DS-ALL 38 例の診断時骨髄を使用した。発現量測定の対照として、2002 年から 2010 年に当院で診断治療された non-DS-ALL 25 例の診断時骨髄を使用した。 ② <i>CRLF2</i>-<i>JAK</i> 経路関連遺伝子異常の解析：<i>JAK2</i> の pseudokinase domain、<i>CRLF2</i> の全コード領域についてゲノム PCR と RT-PCR を施行し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を解析した。 ③ <i>P2RY8-CRLF2</i> 解析：特異的プライマーを用いて、ゲノム PCR、RT-PCR を施行し、ダイレクトシーケンス法により融合遺伝子の存在を確認した。 	

- ④ *CRLF2*発現量解析：cDNAの得られたDS-ALL 24例、non-DS-ALL 25例に対し定量的リアルタイムPCRを施行し、比較Ct法にて*CRLF2*発現量を測定した。内因性コントロールとして*GAPDH*を採用した。*CRLF2*高発現の定義は、既報になり非DS関連ALLにおける*CRLF2*発現量中央値の10倍以上とした。
- ⑤ ALL関連遺伝子のコピー数解析：十分なDNAサンプルがあるDS-ALL32例について、*IKZF1*、*EBF1*など、ALLの発症や予後に関わっている遺伝子について、multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)法を用いてコピー数解析を行った。
- ⑥ 統計解析：臨床データを用いたサブグループ解析、*CRLF2*発現量についての統計解析についてはFisherの正確確率検定とMann-WhitneyのU検定のいずれかを使用した。生存分析に関してはKaplan-Meier法を使用し、ログランク検定により有意差を解析した。それぞれP値<0.05をもって有意差ありと判定した。

結果

- ① 38例中6例(16%)で*JAK2*変異を認め、欧米から報告されている頻度と同じかやや低頻度であった。*CRLF2*について遺伝子変異は1例も認められなかった。
- ② DS-ALL 38例中11例(29%)で*P2RY8-CRLF2*を認め、欧米からの報告(約50%)よりもやや低頻度であった。
- ③ *CRLF2*高発現は、*P2RY8-CRLF2*陽性例7例中6例、陰性例20例中3例、計27例中9例(33%)で認められた。
- ④ *IKZF1*欠失は8例(25%)で認められた。*EBF1*欠失は32例中5例(16%)で認められ、*P2RY8-CRLF2*陽性群で有意に高頻度であった。
- ⑤ 臨床データが得られた症例で、各遺伝子異常の有無での臨床的特徴の差異を解析した。*IKZF1*欠失例は*IKZF1*非欠失例と比較して有意に全生存期間が短いことが明らかとなった。そのほかの遺伝子異常の有無は性別、診断時年齢、診断時白血球数、NCIリスク分類、無イベント生存期間、全生存期間のいずれにも相関は認められなかった。

考察

本邦のDS-ALLでは*CRLF2*-*JAK*シグナル伝達経路の活性化をもたらすような遺伝子異常の頻度が欧米諸国より低いことが明らかとなった。本邦DS-ALLでは*CRLF2*-*JAK*経路以外に分子標的となる主要な経路が存在する可能性が示唆された。

*IKZF1*欠失症例の頻度、予後に関しては欧米での既報とほぼ同様の結果であった。*EBF1*欠失を認めるDS-ALL症例は欧米では約2%とかなり稀であるが、本邦DS-ALL症例では16%に認められ、特に*P2RY8-CRLF2*を有する症例で高頻度に認められた。本邦DS-ALL症例の一部では、*P2RY8-CRLF2*と*EBF1*欠失が協調して白血病発症に関わっている可能性が示唆された。