

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	成育科学領域小児病態学教育研究分野 伊東竜也
(論文題目) Integrated genetic and epigenetic analysis revealed heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome (ゲノムおよびエピジェネティック統合解析により明らかとなったダウン症候群における急性リンパ性白血病の多様性)	
(内容の要旨) 【背景】 Down 症候群 (DS) の小児は、健常児と比較して 20 倍の頻度で急性リンパ性白血病 (ALL) を発症する。Down 症候群と関連のない ALL (non-DS-ALL) と比較して、Down 症候群に合併する ALL (DS-ALL) は、シグナル伝達経路である CRLF2/JAK 経路関連遺伝子異常の頻度が高く、 <i>ETV6-RUNX1</i> や高 2 倍体核型などの予後良好な染色体異常の頻度が低いことが知られている。また、DS-ALL は non-DS-ALL と比較して一般に予後不良であることが知られており、DS における ALL の発症要因や予後不良要因の解明が待たれている。しかし、DS-ALL のゲノム異常・エピゲノム異常は十分解明されておらず、DS の小児が ALL を発症する正確なメカニズムは不明である。 【対象】 1987 年から 2015 年に本邦多施設にて診断治療された DS-ALL 43 例を研究対象とした。その他に non-DS-ALL 38 例、ALL や急性骨髄性白血病を発症していない DS 18 例をコントロールとして解析した。 【方法】 1. RNA シーケンス: DS-ALL 25 例を対象に、NEBNext Ultra RNA library prep kit for the Illumina platform を使用し、Genomon version 2.5.0 により融合遺伝子を検出し、新規の融合遺伝子については RT-PCR に続いてサンガー法で確認した。また発現クラスター解析を行った。 2. DNA メチル化解析: DS-ALL 35 例、non-DS-ALL 24 例について、Infinium HumanMethylationEPIC BeadChip、または Infinium HumanMethylation 450K BeadChip を用いて行い、メチル化クラスター解析を行った。 3. 遺伝子解析: DS-ALL を対象に、Miseq platform 及び HaloPlex を用いて、32 遺伝子に対するターゲットシーケンスを行った。32 遺伝子には JAK/STAT 経路の <i>JAK2</i> 、 <i>SH2B3</i> 、RAS 経路の <i>KRAS</i> 、 <i>NRAS</i> 、 <i>PTPN11</i> 、 <i>NF1</i> 、 <i>KIT</i> 、 <i>FLT3</i> を含めた。 4. コピー数解析: MLPA 法、SNP array 法を用いた。 【結果】 1. 発現解析: DS-ALL のサブタイプは多様性に富み、それぞれのサブタイプの特徴は non-DS-ALL と共通しており、DS-ALL 特有のサブタイプは認めなかった。しかしながらサブタイプの割合は non-DS-ALL とは大きく異なり、Ph-like ALL と B-other ALL	

がそれぞれ約3分の1を占めており、*ETV6-RUNX1*や高2倍体核型は低頻度であった。Ph-like ALLのほとんどでCRLF2/JAK経路、B-other ALLの約半数でRAS経路の遺伝子異常が認められた。*JAK2*変異と*CRLF2*融合遺伝子を持つDS-ALLの6例はすべてPh-likeに分類された。

2. DNAメチル化解析：DS-ALLの患者においてのみ21番染色体上の*RUNX1*のプロモーター領域の高メチル化が認められ、non-DS-ALLにおいては認めなかった。
3. DS-ALLでは*JAK2*遺伝子変異を43例中11例（26%）、RAS経路の変異を43例中11例（26%）、これら両方に異常を認めないものは43例中21例（49%）であった。*P2RY8-CRLF2*は43例中16例（37%）に認め、*JAK2*遺伝子変異を認めたものの全例で*P2RY8-CRLF2*が認められた。
4. DS-ALL ではPh-likeとそれ以外とを比較して、予後に有意差は見られなかった。また、B-otherとそれ以外とを比較して、5年無イベント生存率がB-otherで有意に低かった。

【考察】

DS-ALLはPh-likeに分類される割合が多いものの、非常に多様性に富み、多くのサブタイプが存在した。それぞれのサブタイプにおいて、non-DS-ALLと遺伝子発現やDNAメチル化プロファイルは共通していた。

我々のDS-ALLのコホートはnon-DS-ALLと比較して予後不良であったが、その要因として、DSにおける重篤な治療関連毒性と、治療関連死の増加が挙げられる。またB-otherなどの予後不良のサブタイプの頻度が高いことが挙げられ、B-other DS-ALLについてはさらなるサブタイプの同定と、それに応じたリスク分類が必要である。加えてDS-ALLの個々のサブタイプに基づいた正確なリスク分類が治療に有益であると考えられ、ゲノム異常・エピゲノム異常に基づいた層別化治療が必要と考えられる。具体的にはDS-ALLの約3分の1を占めるPh-like ALLに対するJAK阻害薬、同じくDS-ALLの約3分の1を占めるB-other ALLのなかで約半数を占める、RAS経路に変異をもつALLに対するMEK阻害薬など、ゲノム異常・エピゲノム異常に基づいた新規治療薬の導入が望まれる。

DS-ALLにおいては、血液細胞、特にB細胞の分化に重要な*RUNX1*のプロモーター領域の高メチル化を認め、DSにおける前駆B細胞性ALLの発症への関与が示唆された。