

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	ZNF384 related fusion genes define a subgroup of childhood B cell precursor acute lymphoblastic leukemia with a characteristic immunotype
別タイトル	ZNF384 関連融合遺伝子は小児B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病において特徴的な免疫表現型をもつ一群である
作成者（著者）	平林, 真介
公開者	東邦大学
発行日	2018.03.14
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 61.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：島田英昭 / タイトル：ZNF384 related fusion genes define a subgroup of childhood B cell precursor acute lymphoblastic leukemia with a characteristic immunotype / 著者：Shinsuke Hirabayashi, Kentaro Ohki, Kazuhiko Nakabayashi, Hitoshi Ichikawa, Yukihide Momozawa, Kohji Okamura, Akinori Yaguchi, Kazuki Terada, Yuya Saito, Ai Yoshimi, Hiroko Ogata Kawata, Hiromi Sakamoto, Motohiro Kato, Junya Fujimura, Moeko Hino, Akitoshi Kinoshita, Harumi Kakuda, Hidemitsu Kurosawa, Keisuke Kato, Ryosuke Kajiwara, Koichi Moriwaki, Tsuyoshi Morimoto, Kozue Nakamura, Yasushi Noguchi, Tomoo Osumi, Kazuo Sakashita, Junko Takita, Yuki Yuza, Koich Matsuda, Teruhiko Yoshida, Kenji Matsumoto, Kenichiro Hata, Michiaki Kubo, Yoichi Matsubara, Takashi Fukushima, Katsuyoshi Koh, Atsushi Manabe, Akira Ohara, Nobutaka Kiyokawa / 掲載誌：Haematologica / 巻号・発行年等：102(1):118-129, 2017
著者版フラグ	none
報告番号	32661 甲第866号
学位記番号	甲第589号
学位授与年月日	2018.03.14
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD74369975

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

平林真介より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 589 号

学位申請者 : 平 林 真 介

学位審査論文 : *ZNF384*-related fusion genes define a subgroup of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with a characteristic immunotype

(*ZNF384* 関連融合遺伝子は小児 B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病において特徴的な免疫表現型をもつ一群である)

著 者 : Shinsuke Hirabayashi, Kentaro Ohki, Kazuhiko Nakabayashi, Hitoshi Ichikawa, Yukihide Momozawa, Kohji Okamura, Akinori Yaguchi, Kazuki Terada, Yuya Saito, Ai Yoshimi, Hiroko Ogata-Kawata, Hiromi Sakamoto, Motohiro Kato, Junya Fujimura, Moeko Hino, Akitoshi Kinoshita, Harumi Kakuda, Hidemitsu Kurosawa, Keisuke Kato, Ryosuke Kajiwara, Koichi Moriwaki, Tsuyoshi Morimoto, Kozue Nakamura, Yasushi Noguchi, Tomoo Osumi, Kazuo Sakashita, Junko Takita, Yuki Yuza, Koich Matsuda, Teruhiko Yoshida, Kenji Matsumoto, Kenichiro Hata, Michiaki Kubo, Yoichi Matsubara, Takashi Fukushima, Katsuyoshi Koh, Atsushi Manabe, Akira Ohara, Nobutaka Kiyokawa

公 表 誌 : Haematologica 102 (1) : 118-129, 2017

論文内容の要旨 :

【背景】

小児 B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病 (BCP-ALL) の治療成績はここ数十年で飛躍的に向上し、5 年生存率が 90% を超える一方、再発を来す症例も存在する。予後不良群の適切な予測と治療、予後良好群の治療の低減を目指し、BCP-ALL のサブグループが分類されてきた。その中で、特徴的な核型、遺伝子異常が見つからない一群が B-others と呼ばれ、重要な研究課題となっていた。BCP-ALL の B-others の中には多くの新規融合遺伝子が存在していると考えられ、これらを明らかにすることで、白

血病発症機構の解明や新たな分子標的薬の開発などに発展する可能性が考えられる。東京小児がん研究グループ (TCCSG) では 2015 年に新規に *EP300-ZNF384* 融合遺伝子を同定した。*ZNF384* 関連の融合遺伝子の症例報告はあるが、これまで網羅的な検討はなく、小児 BCP-ALL の中における頻度や臨床的特徴は明らかではない。

【方法】

TCCSG バイオバンクに保存されている BCP-ALL、B-others から抽出された RNA 検体を用いて、全トランスクリプトーム解析を行い融合遺伝子の同定を行った。Validation コホートでは RT-PCR とサンガーシーケンスを選択した (Figure 1)。さらに、マイクロアレイにより遺伝子発現解析を行い、一部の症例では全エクソン解析により遺伝子変異の同定を行い、生物学的特徴を明らかにした。合わせて表面マーカーを含む臨床情報を用いて統計解析を行い、これまで解析したデータと合わせて臨床的特徴を検討した。

【結果】

ZNF384 と融合する既知の遺伝子 (*TCF3*, *TAF15*, *CREBBP*, *EP300*) に加え新規の融合相手として *BMP2K* を同定した。291 例の BCP-ALL が登録された単一コホートにおいては、*ZNF384* 関連融合遺伝子が B-others の 9.2% (全体の 4.1%) を占め、特に *TCF3-ZNF384* 融合遺伝子が 5.4% (全体の 2.4%) と最多であった。融合遺伝子の構造としては、これまでの報告と同様に *ZNF384* は機能ドメインを残存し、転座相手の遺伝子は、融合遺伝子の形成に伴って機能ドメインを喪失していた (Figure 2)。

ZNF384 関連融合遺伝子陽性例に共通した特徴として、表面マーカーでは CD10 が陰性または弱陽性こととなり、CD13、CD33 両方またはどちらかが陽性のパターンをとっていた (Figure 3)。マイクロアレイ解析による *TCF3-ZNF384* 陽性例の遺伝子発現プロファイルの検討では、*TCF3-PBX1* 陽性例や、*ZNF384* 陰性例とは異なる発現を示した。Gene set enrichment analysis (GSEA 法) では、リンパ系細胞よりも造血幹細胞に近い発現パターンをとっていた。これは *EP300-ZNF384* 陽性例においても類似した結果だった (Figure 4)。一方、臨床的特徴としては *TCF3-ZNF384* 陽性例は、*EP300-ZNF384* 陽性例と比較すると、白血球数が多く、年少児に多くみられるなど明らかに異なっていた。治療反応性として重要なステロイド反応性をみると、有意に不良である結果であった (Table 1, 2)。*TCF3-ZNF384* には再発例が多く、全エクソーム解析により付加的遺伝子異常として RAS シグナル経路の遺伝子異常が加わる症例がみられた。5 年全生存率は、*TCF3-ZNF384* 陽性例、*EP300-ZNF384* 陽性例、*ZNF384* 陰性例の順にみると 72.2%、100%、89.8% であり、5 年無イベント率は、50.0%、83.3%、73.3% であった (Figure 5)。

【考察】

ZNF384 関連融合遺伝子は、欧米からの症例報告の頻度から考えると、本邦での頻度は高い可能性がある。共通して表面マーカー上の特徴をもち造血幹細胞に近い発現パターンをとり、BCP-ALL の独立したサブグループと考えられる。一方で、*ZNF384* の融合遺伝子相手により臨床的特徴が異なることが示唆される。機能解析として、*TAF15*、*EWSR1*、*TCF3* と *ZNF384* の融合遺伝子が細胞の形質転換をもたらすことや、*EP300* や *CREBBP* の喪失が白血病発症に寄与することは報告されているが、新規に見つかった *BMP2K* も含め、さらなる機能解析が個々の融合遺伝子の特徴を明らかにするため必要と考える。

【結語】

今回の我々の解析によって、小児 BCP-ALL における *ZNF384* 関連融合遺伝子の頻度が明らかになった。共通して表面マーカー上の特徴をもち造血幹細胞に近い発現パターンをとる。一方で、*ZNF384* の融合遺伝子相手 (*EP300* と *TCF3* の違い) により臨床的特徴が異なることが示唆され、今後の症例集積、解析が望まれる。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 589 号	氏 名	平 林 真 介
学位審査担当者	主 査	島 田 英 昭
	副 査	澁 谷 和 俊
	副 査	近 藤 元 就
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	三 上 哲 夫

学位審査論文の審査結果の要旨 :

小児 B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病 (BCP-ALL) の 25%前後の症例では特徴的な遺伝子異常が見つかっていない。本研究は、この未解明の症例群における新たな遺伝子異常を同定しようとする試みである。東京小児がん研究グループ (TCCSG) バイオバンクに保存されている BCP-ALL、B-others から抽出された RNA 検体を用いて、全トランスクリプトーム解析を行い融合遺伝子の同定を行った。さらにマイクロアレイにより遺伝子発現解析を行い、一部の症例では全エクソン解析により遺伝子変異の同定を行い、生物学的特徴を明らかにした。合わせて表面マーカーを含む臨床情報を用いて統計解析を行い、これまで解析したデータと合わせて予後を解析した。新規の融合相手遺伝子として *BMP2K* を同定した。*ZNF384* 関連融合遺伝子が全体の 4.1%を占め、特に *TCF3-ZNF384* 融合遺伝子が全体の 2.4%と最多であった。*ZNF384* 関連融合遺伝子陽性例に共通した特徴として、表面マーカーでは CD10 が陰性または弱陽性にとどまり CD13、CD33 両方またはどちらかが陽性のパターンであった。臨床的特徴としてはステロイド治療抵抗性であり、*TCF3-ZNF384* には再発例が多く、5 年全生存率は、*TCF3-ZNF384* 陽性例、*EP300-ZNF384* 陽性例、*ZNF384* 陰性例の順にみると 72.2%、100%、89.8%であった。

2017 年 11 月 29 日の学位審査会では、解析対象サンプルの特性、融合遺伝子同定のための絞込み方法、融合遺伝子の機能障害のメカニズム、治療効果との関連性、予後との関連性、診断的有用性、今後の研究の発展など、本研究の実臨床での意義や診断・治療への応用について詳細な質疑が行われた。平林真介氏は、全ての質問に対して、正確かつ詳細な回答を述べて、本研究の意義について考察した。同定された遺伝子は、おそらくはドライバー遺伝子として、特効薬としての分子標的治療薬の開発につながる可能性が高く、少なくとも近々に開発が期待される CD10 陽性・陰性判定の診断ツールの開発を通じて実臨床へ貢献できるものと考えられる。白血病発症機構の解明や新たな分子標的薬の開発などに発展する可能性が考えられる。

以上より、本研究の意義は大きく学位論文として十分な質があるものと判断される。