

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 718 号	学位申請者	新居 亮彦
審査委員	主査	岡本 康裕	学.位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	橋口 照人	副査 西川 拓朗
	副査	原 博満	副査 窪菌 琢郎

**Identification of putative non-canonical driver mutations in patients with essential thrombocythemia** (本態性血小板血症患者における新規ドライバー変異の同定)

骨髄増殖性腫瘍 (myeloproliferative neoplasms; 以下 MPN) とは、造血幹細胞に遺伝子変異が生じ、造血細胞の過剰な増殖や脾腫、骨髄線維化をきたす疾患群である。真性多血症、本態性血小板血症 (essential thrombocythemia; 以下 ET)、原発性骨髄線維症が古典的 MPN として知られる。古典的 MPN では *JAK2* 変異、*CALR* 変異、*MPL* 変異といったドライバー変異を共通して持つことが特徴であるが、それら典型的遺伝子変異を有さない ET 症例を 10~20% に認め、Triple negative ET (以下 TN-ET) と呼ぶ。近年発達した遺伝子解析技術により TN-ET 例で新規のドライバー遺伝子候補が報告されたが、同定割合は少なく、また同定された遺伝子変異と臨床的特徴について情報に乏しい。そこで学位申請者らは鹿児島県内の血液内科専門施設で診療されている MPN 症例を登録し、典型的ドライバー遺伝子変異の同定による TN-ET 例の抽出、典型的ドライバー遺伝子変異を有する群と TN-ET 群の臨床情報の比較を行った。さらにエクソーム解析と遺伝子パネル検査を組み合わせ、TN-ET 例のドライバー遺伝子候補の同定とその機能解析を行った。その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) ET 患者 119 例中、*JAK2* 変異 66 例 (55.5%)、*CALR* 変異 27 例 (22.7%)、*MPL* 変異 6 例 (5.0%)、TN-ET 例 20 例 (16.8%) であった。TN ET 症例は *JAK2* 変異群と比較し、若年で、血小板数と LDH 値上昇が軽度であった。血栓/出血イベントの合併については遺伝子変異群間に有意な差を得られなかった。
- 2) エクソーム解析と遺伝子パネル解析により TN-ET 20 例中 7 例 (35%) でドライバー変異候補を同定した。その内 *JAK2* T875N、*THPO* スプライシング部位変異、*MPL*\*636Wext\*12、*MPL* E237K は新規非典型的ドライバー変異候補として同定された。
- 3) 同定された 7 つのドライバー変異候補のうち 4 つは生殖細胞系由来変異であり、家族性血小板増多症に再分類された。家族性血小板血症例は若年であり、十分な観察期間にもかかわらず、血栓性イベントの合併はなく、骨髄線維症への移行も認めなかった。
- 4) *MPL*\*636Wext\*12 の機能解析では *STAT5* のプロモーター活性の上昇は認めなかったものの、*MPL* (Y626)、*STAT3*、*ERK1/2*、および *AKT* のリン酸化の増加をウェスタンブロット法で認めた。また、*MPL*\*636Wext\*12 変異導入 BaF/3 細胞の IL3 非依存的自立増殖能の獲得も認めた。
- 5) *MPL* E237K の機能解析では、変異導入細胞での IL3 非依存性細胞増殖は得られなかった。トロンボポエチン (以下 TPO) 刺激下で野生型 *MPL* に比して高い細胞増殖能を認めた。TPO 15ng/mL 添加下で *STAT3*、*ERK1/2*、および *AKT* のリン酸化蛋白の発現増強を認めた。
- 6) *THPO* のスプライシング異常変異では既報から exon3 がスキップによる *THPO* 転写促進が予想された。本症例においても TPO の血中濃度上昇 (247pg/mL、正常値<80) を確認できた。本変異による血清高 TPO 血症により血小板増多症を来していることが示唆された。

ET 119 例中 TN-ET は 20 例であり、内 7 例で新規ドライバー変異候補を同定できた。新規 4 変異について機能獲得型変異であることを示した。TN-ET 例には 4 例 (TN-ET の 20%) の生殖細胞系変異が同定され、家族性血小板増多症に分類された。TN-ET が若年であることの原因の一つである可能性が示唆された。非典型的ドライバー変異の遺伝的・臨床的特徴も明らかとすることができ、今後の TN-ET の臨床的介入に役立つと基盤情報と考えられる。本研究は ET 119 例の遺伝子変異と合併症を含む臨床所見を検討したものであり、その結果、新規機能獲得型変異の同定と ET における家族性血小板増多症の割合を初めて示した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。