

論 文 内 容 の 要 旨

Clinical features of Japanese polycythemia vera and essential thrombocythemia patients harboring *CALR*, *JAK2*V617F, *JAK2*Ex12del, and *MPL*W515L/K mutations.

*CALR* 遺伝子変異 *JAK2*V617F、*JAK2* Exon12deletion、*MPL*W515L/K を有する日本人真性多血症と本態性血小板血症の臨床的特徴

日本医科大学大学院医学研究科 血液内科学分野

研究生 岡 部 雅 弘

Leukemia Research 第 40 卷(2016), p68–76 掲載

骨髄増殖性腫瘍(myeloproliferative neoplasm: MPN)は造血幹細胞の異常により骨髄系の細胞がモノクローナルに増殖する疾患であり、血球の増生を認め血栓症リスクが増加することや白血病への転化が起こる。

真性多血症(polycythemia vera: PV)、本態性血小板血症(essential thrombocythemia: ET)における発症の原因として PV では 95%以上、ET では半数以上に *JAK2*V617F 変異が認められる。*JAK2*V617F 変異以外の遺伝子変異として *JAK2*exon12 の deletion 変異(*JAK2* Ex12 del)、*c-MPL* 遺伝子の W515L/K(*MPL*W515L/K)変異、*Calreticulin*(*CALR*)遺伝子変異が発見された。MPN の診断基準に上記の遺伝子変異が組み入れられ、診断において遺伝子変異の検索は必須となっている。

また、遺伝子変異以外に、*JAK2*V617F変異を認める PV、ET では、正常コントロール群と比較し *JAK2* 遺伝子の 46/1 ハプロタイプが高率に認められた。日本人の PV と ET を対象とした後方視的研究では欧米に比べて明らかに血栓症を合併するリスクが低く、ハプロタイプは人種によってその結果が大きく異なる可能性があるため、本研究は日本人 MPN におけるこれらの遺伝子変異やハプロタイプによる臨床像を明らかにすることを目的としている。

2002 年から 2011 年 12 月までに本研究に参加した施設において診断された MPN 症例 377 例、正常コントロール 232 例を対象とした。遺伝子変異に関しては、Mutation biased polymerase chain reaction (MB-PCR)法、direct sequence 法にて解析した。*JAK2* Ex12 del と *CALR* 遺伝子変異における deletion 変異や insertion 変異は TA cloning で塩基配列を決定した。*JAK2* 遺伝子の 46/1 ハプロタイプは PCR-restriction fragment length polymorphism(RFLP)法で判定した。患者臨床データの比較は Chi-square tests、Fisher tests、t tests を用いて解析を行った。*JAK2*V617F allele burden と末梢血血算データとの相関は Pearson's product moment correlation にて解析を行った。解析は SPSS、連鎖解析に関しては haploview を用いて解析をした。

解析対象となった PV 症例数は 74 例、ET 症例数は 303 例であった。両疾患の診断基準を反映して PV 症例の赤血球数、Hb 値、Ht 値と ET 症例の血小板値が有意差を示した。診断時での血栓症や出血の既往、白血病や骨髄線維症への移行に関しては両疾患の間で有意差を認めなかった。

PV の遺伝子変異に関しては、93.2%の症例は *JAK2*V617F を、5.4%の症例は *JAK2* Ex12 del を、1.4%の症例は *MPL* 変異を認めた。

*JAK2*V617F allele burden を比較すると、ET に比較して PV は有意に *JAK2*V617F allele burden が高く、70%以上の症例では診断時における血栓症の既往が多い傾向が認められた。*JAK2*V617F 変異陽性の PV 症例と *JAK2* Ex12 del の PV 症例の臨床的背景を比較したが有意差を示す項目はなかった。

ET の遺伝子変異に関しては、60.9%の症例は *JAK2*V617F を、16.0%の症例は *CALR* 変異を、3.7%の症例は *MPL* 変異を認めた。19.4%の症例はいずれの変異も認めなかった。また 0.3%の症例において *JAK2*V617F と *MPL* 変異の両変異を認めた。

*CALR* 変異陽性 ET 症例の特徴は *JAK2*V617F 陽性 ET 症例と比較して、WBC 数、RBC 数、Hb 値、Ht 値が有意に低値で、血小板数が有意に高値であった。また遺伝子変異陰性 ET 症例と比較して、年齢が若く、WBC 数、Plt 数が低値で、血小板数が高値であった。

また *JAK2*V617F 陽性 ET 症例の特徴は *MPL*W515L/K 陽性 ET 症例や遺伝子変異陰性 ET 症例と比較して WBC 数、RBC 数、Hb 値、Ht 値が有意に高値であった。さらに *JAK2*V617F allele burden の高い症例は白血球数、赤血球数、Ht 値が有意に高くより PV 様の特徴を示した。

*JAK2*V617F 変異周囲の一塩基多型は PV、ET、正常コントロール症例においてそれぞれ連鎖不平衡を認めた。*JAK2* 遺伝子 46/1 ハプロタイプの頻度は、正常コントロール群と比べて有意に PV や ET 症例で高かった。ET では *JAK2* 遺伝子 46/1 ハプロタイプの頻度は正常コントロール症例と比較し *JAK2*V617F 陽性症例、*MPL*W515L/K 陽性症例で有意に高く、*CALR* 変異陽性症例や遺伝子変異陰性症例では正常コントロール群と比べて *JAK2* 遺伝子 46/1 ハプロタイプの頻度は有意差を認めなかった。

PV と ET の血栓症の診断時からの累積発症率はそれぞれ 10 年で 9.6%、9.0%であった。PV では 60 歳以上の

症例は血栓症の累積発症率が高い傾向が示され、 overall survival(OS)に関してはすべて項目で有意差は認められなかった。ET では血栓症の既往をもつ症例は血栓症の累積発症率が有意に高かった。ET の OS に関しては、年齢 60 歳以上の症例や血栓症の既往をもつ症例は有意に低かった。しかし血栓症の既往や年齢以外で遺伝子変異を含め ET の OS に関して有意差は得られなかった。

今回日本人 MPN における前向き試験を実施し、ET 症例において *CALR* 遺伝子変異と *JAK2V617F* 変異の頻度は互いに相補的であることを明らかにし、それぞれの遺伝子変異を有する ET 症例では血液データ、46/1 ハプロタイプとの関連、血栓症発症率が異なることを明らかにした。

今回の前方視的研究では PV や ET の診断後に発症した血栓症の頻度は以前の報告よりさらに低かったが、PV や ET 発症前の既往症としての血栓症を PV や ET 発症後の血栓症と明確に区別したことが理由として考えられ、実際の血栓症の頻度は今回の結果よりやや高い可能性がある。

今回解析した日本人 *CALR* 遺伝子変異陽性 ET 症例は欧米の報告と同様の傾向を示した。

PV、ET における *JAK2* 遺伝子 46/1 ハプロタイプと各遺伝子変異の関係は、これまでの報告と同様であった。MPN の発症には、*JAK2* 遺伝子 46/1 ハプロタイプが関与する発症機序と関与しない発症機序があると考えられた。このことから今後治療の層別化が必要になる可能性がある。