

# 論文内容要旨

Recurrent SPI1 (PU.1) fusions in high-risk  
pediatric T cell acute lymphoblastic leukemia

(高リスクの小児 T 細胞性急性リンパ芽球性白血病に  
おいて繰り返し認められる SPI1 (PU.1) 融合遺伝子)

Nature Genetics, 49(8):1274-1281,2017.

主指導教員：小林 正夫教授

(医歯薬保健学研究科 小児科学)

副指導教員：安井 弥教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

副指導教員：川口 浩史講師

(広島大学病院 小児科学)

木村 俊介

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 緒言

小児 T 細胞性急性リンパ性白血病 (T-ALL) の治療成績は近年著しく向上しているが、その 20-30%は治療抵抗性例や再発例である。さらにこれらの症例の予後は極めて不良である。また、その遺伝学的基盤は十分解明されておらず、現時点で有効な標準治療は確立していない。本研究では、難治性 T-ALL の分子病態に関連した遺伝子異常および融合遺伝子を同定する目的に、次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな解析を行った。

## 対象と方法

小児白血病研究グループ (TCCSG, JACLS) や関連施設から提供された初発時小児 T-ALL181 検体を用いて、全トランスクリプトーム解析と ALL に関連した 158 個の遺伝子、領域に対するオンコパネルシーケンス (ターゲットキャプチャー解析) による包括的プロファイリングを行った。すべてのゲノム解析や統計学的処理は R を用いて行った。

## 結果

全トランスクリプトーム解析 (WTS) の結果、これまでに T-ALL で報告のある融合遺伝子 (*STIL-TAL1* など)に加えて、血球の分化において重要な転写因子である PU.1 をコードする *SPI1* 遺伝子の新規融合遺伝子 (*STMN1-SPI1*, *TCF7-SPI1*) を、解析した小児 T-ALL 例の 3.9% (181 例中 7 例) で同定した。この新規 *SPI1* 融合遺伝子は PU.1 の機能ドメインを保持し、T 細胞で高発現している *STMN1* や *TCF7* と in-frame 接続していた。*SPI1* は正常の T 細胞の分化においては幼弱な胸腺細胞においてのみ発現し、commitment の前に発現が消失する。*SPI1* 融合遺伝子例はこれらの遺伝子のプロモーターを利用するため、その他の T-ALL 例と比較して *SPI1* mRNA の発現が極めて高値となっており ( $P=9.6 \times 10^{-6}$ ), *SPI1* の異常な高発現が持続していると考えられた。

Luciferase assay により、この新規 *SPI1* 融合遺伝子の機能を解析した。その結果、*SPI1* 融合遺伝子は野生型 *SPI1* と同等の機能を有していることが明らかとなった。また、マウス胸腺の CD4/8 double negative (DN) T 細胞に *SPI1* 融合遺伝子を導入し、cell growth assay で増殖能を、TSt4/DLL1 マウスストローマ細胞との共培養で分化能を検証した。その結果、*SPI1* 融合遺伝子を導入すると野生型 *SPI1* と同等の細胞増殖活性を保持し、DNT 細胞の分化段階で分化が停止することが明らかとなった。さらにマウスに *SPI1* 融合遺伝子を導入した造血幹細胞を移植することで、生体内でも同様に分化の停止がもたらされることも確認した。

WTS の発現データを用いてこの新規 *SPI1* 融合遺伝子を有する T-ALL の特徴を解析した。小児 T-ALL は発現データをもとに行ったコンセンサスクラスタリングにより 5 群に分類され、過去に発現アレイによる分類で報告された ETP 群、TLX 群、*TAL1*-RA 群、*TAL1*-RB 群に加えて、新たに本研究で同定された *SPI1* 融合遺伝子例のみで構成される *SPI1* fusion 群が分類された。変異パターンを解析した結果、*SPI1* fusion 群では NOTCH1 シグナルや RAS に関連した遺伝子異常を多く有していた。また、*SPI1* だけでなく、*MEF2C* など幼弱な T 細胞で特徴的に発現する遺伝子が高発現となっており、commitment など T 細胞の分化の過程において重要な役割を有する遺伝子の発現プロファイルがその他の T-ALL とは大きく異なっていた。

*SPI1* 融合遺伝子例の予後解析を行ったところ、7 例中 6 例が 3 年以内に早期再発死亡しており、

その他の T-ALL 症例と比較して極めて予後不良であった (Log-rank  $P = 1.12 \times 10^{-5}$ )。多変量解析においても *SPI1* 融合遺伝子は独立した予後不良因子であった (HR = 8.66, 95%CI = 2.60-28.78,  $P = 4.28 \times 10^{-4}$ )。 *SPI1* 融合遺伝子例は、10 歳未満の比較的若年例に多く、初診時の白血球数が 10 万/ $\mu$ l 以上と高値であることが臨床的特徴であった。また、 *SPI1* 融合遺伝子例は DN または CD4-/CD8+ の免疫表現型を呈する幼弱な分化段階の T-ALL であったが、全例が CD5 強陽性であり初期前駆 T 細胞性急性リンパ芽球性白血病 (ETP-ALL) の基準は満たさなかった。

#### 結語

以上の結果より、これまでに報告された T-ALL とは独立した特異なプロファイルを呈する極めて予後不良な *SPI1* 融合遺伝子を、日本人小児 T-ALL の 3.9% で同定した。 *SPI1* (PU.1) 融合タンパクは PU.1 の転写因子としての機能を保持しており、その恒常的な発現は細胞増殖を誘導し T 細胞の分化停止を引き起こした。今回の研究で、ハイリスクの小児 T-ALL における *SPI1* 融合遺伝子特有の機序を明らかとした。