









学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・ 	第 394 号	氏名	佐分利 益穂
審査委員会委員	主査氏名	濱田 文彦 	
	副査氏名	河野 寛司 	
	副査氏名	北谷 正樹 	
【論文題目】			
Prognostic implications of TdT expression in acute myeloid leukemia with an intermediate-risk karyotype (中間リスク染色体核型を有する急性骨髄性白血病における TdT 発現の予後への影響)			
【論文掲載雑誌名】			
International Journal of Hematology			
【論文要旨】			
<背景と目的>			
Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) は前駆リンパ芽球性腫瘍や急性骨髄性白血病(AML) 細胞において発現が認められる DNA 合成酵素だが、前駆リンパ芽球性腫瘍の診断に用いられる一方で、AML 細胞における発現の臨床的意義は明らかになっていない。本研究では、中間リスク群の染色体核型を有する AML 細胞における TdT の発現が、その予後にどのように影響するかを明らかにすることを目的として、後方視的解析を行った。			
<対象と方法>			
2011 年 1 月から 2017 年 9 月の間に、大分県厚生連鶴見病院で AML と診断された成人患者 134 名のうち 107 例で、診断時骨髄検体について、フローサイトメトリー (FCM) を用いた細胞抗原検査を行った。107 例のうち 58 例が染色体分析によって中間リスク群に分類され、このうち標準化学療法の適応でない 10 例を除く 48 例を本研究の解析症例とした。これらの症例における TdT の発現も同様に FCM を用いて測定し、全体の 10% 以上の細胞で TdT 発現が認められた症例を TdT 発現陽性症例とした。			
生存率は Kaplan-Meier 法で推定し、群間比較には Log-rank 検定を用いた。全生存期間 (OS) は診断日から死亡または最終観察日までの期間、無イベント生存期間 (EFS) は診断日から寛解導入不応、再発、または何らかの原因による死亡までの期間、無再発生存期間 (RFS) は完全寛解 (CR) 達成例にて CR 達成から再発または何らかの原因による死亡までの期間とした。診断時年齢、性別、FAB (French-American-British) 分類病型、染色体核型、診断時白血球数、診断時 LDH (lactate dehydrogenase)、MPO (myeloperoxidase)、および TdT を単変量の因子として、Log-rank 検定にて $p < 0.2$ の因子を Cox 比例ハザードモデルへ投入し、多変量解析を行った。			
<結果>			
観察期間中央値は 806 日。48 例中 35 例が CR となり、25 例が再発。OS 中央値 740 日、EFS 中央値 369 日、および RFS 中央値 368 日であった。48 例中 12 例が TdT 陽性であり、TdT 発現の有無で患者背景や CR 割合に差はなかった。OS、EFS は TdT 発現の有無で差はなかったが、CR 達成後 1 年の時点における無再発での生存可能性は TdT 陽性群が有意に低かった (TdT 陽性群 10% vs. TdT 陰性群 71.3%, $p = 0.002$)。多変量解析の結果、TdT 陽性は RFS の独立したリスク因子であった。			
本研究は、TdT の発現が中間リスク染色体核型を有する AML における再発リスクとなることを示した臨床的に意義のある成果である。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。			

~~最終試験~~

の結果の要旨

学力の確認

審査区分 課・ 	第394号	氏名	佐分利 益穂
審査委員会委員	主査氏名	濱田 文彦 	
	副査氏名	河野 憲司 	
	副査氏名	北谷 正樹 	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① TdT 遺伝子をノックアウトあるいは過剰発現した場合、血液系の細胞の分化にどのような影響を及ぼすか？ ② 正常核型の症例は、なぜ中間リスク群に入るのか？ ③ 転座が見られる症例における融合遺伝子(産物)の構造・機能は明らかにされているのか？ ④ TdT 発現陽性が無再発生存期間の独立したリスク因子となるメカニズムは何か？ ⑤ 数十年前と比較して、成人の白血病の治療率に改善は見られるか？ ⑥ Tabel 1 の Response to induction therapy の "CR" は第1寛解のみのことか？ ⑦ TdT の cut off 値を過去の論文を参考に 10% に設定しているが、他の cut off 値で検討してみたか？ ⑧ Relapse-free survival の多変量解析で3つの変数を入れているが、TdT 陽性 12 例に対して 3 変数は多すぎるのではないか？単変量で有意であった 2 変数で多変量解析をしたらどのような結果になるか？ ⑨ 染色体検査による予後リスク評価が経過中に変わることはあるか？ ⑩ TdT 発現率・発現強度は再発病変で亢進するのか？ ⑪ ALL における TdT の陽性率の臨床学的意義は？ ⑫ AML における RUNX1 等の遺伝子変異は全腫瘍細胞に認められるのか？ ⑬ TdT は治療標的として有望か？ ⑭ best supportive care とは何か？ ⑮ RUNX1 の mutation と TdT の発現亢進には関連があるとのことだが、どちらが原因で、どちらが結果と考えられるか？ <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 佐分利 益穂

論 文 題 目

Prognostic implications of TdT expression in acute myeloid leukemia with an intermediate-risk karyotype (中間リスク染色体核型を有する急性骨髄性白血病における TdT 発現の予後への影響)

要 旨

背景と目的: Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) は DNA 合成酵素であり、様々な免疫グロブリンや T 細胞レセプターの多様性に関与している。未熟なリンパ球に発現するため、前駆リンパ芽球性腫瘍の診断に有用である。一部の急性骨髄性白血病 (AML) にも発現するが、その臨床的意義は明らかでない。また、染色体核型は AML の重要な予後因子であり、第 1 寛解期における造血幹細胞移植の適応に関わるが、正常核型を含む中間リスク群の移植適応は一定でなく、HLA 適合ドナーの有無、すなわち患者側の因子に大きく影響を受ける。そのため、中間リスク群における疾患側の予後層別化因子の同定は重要な臨床課題とされている。そこで、中間リスク染色体核型を有する AML における TdT 発現の予後への影響を明らかにすることを目的として、後方視的研究を行った。

対象と方法: 2011 年 1 月~2017 年 9 月、大分県厚生連鶴見病院で AML と診断された成人患者 134 人の内、診断時の骨髄検体でフローサイトメトリー (FCM) を用いた細胞表面抗原検査が 107 例で行われた。107 例中 58 例が染色体分析にて中間リスク群に分類され、標準化学療法に適応でない 10 例を除く 48 例を解析対象とした。混合型白血病は、FCM の CD3、細胞内 CD3、CD19、細胞内 CD22、細胞内 CD79a、および細胞内 IgM の結果により除外した。FCM は SRL 社の FACSCant™ II、TdT は BD Bioscience 社のマウスモノクローナル IgG1 抗体 (Invitrogen) を用いて測定され、10%以上の発現を陽性と定義した。生存率は Kaplan-Meier 法で推定し、群間比較には Log-rank 検定を用いた。全生存期間 (OS) は診断日から死亡または最終観察日までの期間、無イベント生存期間 (EFS) は診断日か

ら寛解導入不応、再発、または何らかの原因による死亡までの期間、無再発生存期間 (RFS) は完全寛解 (CR) 達成例にて CR 達成から再発または何らかの原因による死亡までの期間とした。診断時年齢、性別、FAB 分類病型、染色体核型、診断時白血球数、診断時 LDH、MPO、および TdT を単変量の因子として、Log-rank 検定にて $p < 0.2$ の因子を Cox 比例ハザードモデルへ投入し、多変量解析を行った。

結果: 観察期間中央値は 806 日 (範囲: 138-3145 日) であった。48 例中 35 例が CR となり、25 例が再発した。OS 中央値 740 日 (95%CI: 321-1605 日)、EFS 中央値 369 日 (95%CI: 258-557 日)、および RFS 中央値 368 日 (95%CI: 252-966 日) であった。48 例中 12 例 (25%) が TdT 陽性であり (TdT 発現率中央値 0.9% [範囲: 0-86.9%])、TdT 発現の有無で患者背景や CR 割合に差はなかった。OS、EFS は TdT 発現の有無で差はなく (1 年 OS: TdT 陽性群 58.3% vs. TdT 陰性群 65.2%、 $p=0.32$; 1 年 EFS: TdT 陽性群 33.3% vs. TdT 陰性群 57.1%、 $p=0.06$)、RFS は TdT 陽性群が有意に短かった (TdT 陽性群 10% vs. TdT 陰性群 71.3%、 $p=0.002$)。多変量解析の結果、TdT 陽性は RFS の独立したリスク因子であった (HR: 3.309 [95%CI: 1.334-8.209、 $p=0.009$])。

考察: 本研究は、TdT 発現が中間リスク染色体核型の AML における RFS の独立したリスク因子であることを示した。近年、RUNX1 変異と DNMT (deoxynucleotidyltransferase, terminal) 遺伝子発現の関連が報告されており、RUNX1 変異を有する AML-M0 は特徴的な B リンパ球 signature を示すと報告された。RUNX1 変異は、染色体中間リスク群において予後不良となり得る遺伝子異常であり、我々の検討結果を支持するデータと推察される。さらに、TdT が FLT3-ITD および NPM1 の突然変異の誘発に関与するとの報告もあり、TdT 陽性 AML における再発リスクの増加との関連性が推察される。しかし、我々の研究にはいくつかの limitation がある。第一に、TdT 発現率の測定方法には multi-color FCM による評価が望ましい。第二に、FLT3、NPM1、CEBPA、RUNX1 などの AML の予後との関連が明らかとなってきた遺伝子変異が評価されていない点である。加えて、サンプルサイズが少ないことであった。

結語: TdT 発現は中間リスク染色体核型を有する AML における再発リスクと関連することが示唆された。