

1 骨髄系腫瘍に対するクリニカルシーケンス

A 序論

近年の各種悪性腫瘍における網羅的遺伝子変異解析の結果、その発症、病態形成に関わるさまざまな遺伝子異常が同定され、それらを標的としうる分子標的薬の開発も行われている。このような背景から、次世代シーケンサーにより数百の遺伝子を対象とした腫瘍細胞の変異解析を行い、その結果を診断、治療選択の判断材料に用いるクリニカルシーケンスの実用に向けた遺伝子変異解析パネル検査が開発されている。わが国においても固形腫瘍を対象とした遺伝子解析パネル Foundation One CDx, NCC オンコパネルが保険収載され、造血器腫瘍においてもその開発が進められている。造血器腫瘍では、発症に関わる数多くの遺伝子異常が同定され、European LeukemiaNet (ELN)、米国 National Comprehensive Cancer Network (NCCN) などのガイドラインでも、これら遺伝子異常による診断、予後分類、変異に基づく分子標的療法による治療層別化が提唱されている^{1~3)}。しかし、わが国では日常診療で行える造血器腫瘍を対象とした遺伝子変異検査は限られ、World Health Organization (WHO) 分類、欧米のガイドラインで記されている疾患分類も十分には行えていないのが現状である⁴⁾。しかし、固形がんにおけるパネル遺伝子検査は、標準治療がない、もしくは終了した固形がん患者が対象であるが、造血器腫瘍においては、診断時における遺伝子異常に基づく病型診断、予後予測、それらに基づく同種移植の適応の判断を含めた治療法選択に関するエビデンスが存在し、遺伝子パネル検査による遺伝子異常に関する情報が非常に有用である。造血器腫瘍を対象とする遺伝子パネル検査によるクリニカルシーケンスの実用化により、より多くの情報に基づいた、患者個人に最も適した医療の提供が期待される。

B 指針

骨髄系腫瘍では、すでに AML における *PML-RARA*, *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, 慢性骨髄性白血病 (CML) における *BCR-ABL1*, 骨髄増殖性疾患における *JAK2* 遺伝子 V617F 変異など従来の染色体解析、遺伝子変異解析結果に基づく診断、治療法の選択、予後予測や治療反応性の評価が行われてきた。これらの分子異常については、それに基づく治療層別化の有効性についても十分なエビデンスが示されているが、他の遺伝子変異についても同様に、診断、治療方法選択、予後予測と、その目的に応じたエビデンスレベルの分類が必要である。米国、Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, College of American Pathologists の 3 学会からの合同指針、日本血液学会造血器腫瘍ゲノム検査ガイドラインに、診断、治療方法選択、予後予測における各エビデンスレベルが示されている (表 1)¹⁾。また、各項目におけるエビデンスレベルを踏まえた臨床的有用性が考慮され、各エビデンスレベ

表 1 遺伝子異常のエビデンスレベル

エビデンス	診断	治療	予後
レベル A	当該血液腫瘍の診断に有用なバイオマーカーとして、学会指針、もしくは専門家によるガイドライン等に収載されている遺伝子異常	当該血液腫瘍を対象として： 1. 薬事承認において、適応の条件としてあげられている遺伝子異常 2. FDA 承認において、適応の条件としてあげられている遺伝子異常 3. 治療*に対する反応性や抵抗性を予見するバイオマーカーとして、日本もしくは海外の学会指針等のガイドラインに収載されている遺伝子異常	当該血液腫瘍の予後予測に有用なバイオマーカーとして、学会指針、もしくは専門家によるガイドライン等に収載されている遺伝子異常
レベル B	当該血液腫瘍の診断に有用なバイオマーカーとして、統計学的信憑性の高い大規模臨床試験で証明され、当該分野の専門家間のコンセンサスを得た遺伝子異常	当該血液腫瘍を対象とした治療に対する反応性や抵抗性を予見するバイオマーカーとして、統計学的信憑性の高い臨床試験で証明され、かつ当該分野の専門家間のコンセンサスを得た遺伝子異常	当該血液腫瘍の予後予測に有用なバイオマーカーとして、統計学的信憑性の高い大規模臨床試験で証明され、当該分野の専門家間のコンセンサスを得た遺伝子異常
レベル C	診断に有用なバイオマーカーとして、多数の小規模臨床試験で証明された遺伝子異常	1. 当該血液腫瘍以外のがん種を対象に、薬事承認、FDA 承認、もしくは学会承認された治療への反応性や抵抗性を予見する遺伝子異常 2. 臨床試験において治療選択基準として使用されている遺伝子異常	予後予測に有用なバイオマーカーとして、多数の小規模臨床試験で証明された遺伝子異常
レベル D	小規模臨床試験や複数の症例報告から、単独、もしくは他のバイオマーカーとの併用により、診断における有用性が示唆される遺伝子異常	1. 小規模臨床試験や複数の症例報告から、治療に対する反応性や抵抗性を予見するバイオマーカーとして示唆される遺伝子異常 2. 前臨床研究から、治療に対する反応性や抵抗性を予見するバイオマーカーとして示唆される遺伝子異常	小規模臨床試験や複数の症例報告から、単独、もしくは他のバイオマーカーとの併用により、予後予測における有用性が示唆される遺伝子異常

* 治療薬だけでなく、各種の治療法（幹細胞移植法、免疫抑制療法、多剤併用化学療法など）も含む。
（一般社団法人 日本血液学会、編、造血器腫瘍ゲノム検査ガイドライン 2020 年度版、2020 を参考に作成）

ル A, B のものは、その有用性が特に高いとされる。以下に、骨髄性腫瘍で認められる遺伝子変異と診断、予後予測、治療法における有用性に関する各ガイドラインで示されるエビデンス、および網羅的な遺伝子変異解析パネルを用いたクリニカルシーケンスの有効性を示したエビデンスについて記す。

C 診断におけるクリニカルシーケンス

骨髄性腫瘍における WHO 分類 2017 年改訂版では、さまざまな遺伝子異常による疾患分類が行われている。AML では、AML with recurrent genetic abnormalities として、*PML-RARA*、*RUNX1-RUNX1T1*、*CBFB-MYH11* などの融合遺伝子が検出される AML に加えて、*NPM1* 変異、両アリの *CEBPA* 変異、*RUNX1* 変異をみとめる AML が一つの疾患概念として提唱され

ている。BCR-ABL1 陰性の非定型慢性骨髄性白血病での SETBP1, ETNK1 変異, 骨髄増殖性疾患における JAK2, CALR, MPL 変異, 慢性好中球性白血病における CSF3R 変異, 好酸球増多を伴う骨髄/リンパ増殖性疾患での PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 再構成, PCMI-JAK2 融合遺伝子, 環状鉄芽球増加と血小板増多を伴う MDS/MPN における SF3B1 変異なども, その診断に際して有用な遺伝子異常としてあげられている。他にも, Myeloid neoplasms with germ line predisposition に分類される, 生殖細胞系列変異と骨髄性腫瘍の関連が報告された ANKRD26, CEBPA, DDX41, ETV6, GATA2, PTEN, RUNX1, TP53, WT1 遺伝子異常についても, 生殖細胞系列におけるそれら遺伝子変異の診断価値は高い。その一方で, これらの生殖細胞系列変異が認められた際には, 開示希望に応じた遺伝カウンセリングの提供などの整備も必要である。

D 予後予測におけるクリニカルシーケンス

染色体異常と遺伝子変異に基づく AML における予後予測モデルが考慮され, 2017 年に改訂された ELN 予後予測分類では, 染色体異常に NPM1, CEBPA, FLT3-ITD, RUNX1, ASXL1, TP53 各遺伝子変異を加えた予後層別化が提唱されている。NPM1 変異と FLT3-ITD 変異については, NPM1 変異の有無, FLT3-ITD 変異のアレル比 (Allelic Ratio : AR) をも含めた組み合わせにより判定されているが, 日本人 AML コホートでは, FLT3-ITD 変異陽性症例では, NPM1 変異併存の有無, およびアレル比の高低による予後の差は認められず一律に予後不良である²⁾。このような背景より, 日本人独自の予後層別化モデルの構築が必要であるとともに, FLT3 阻害薬をはじめ, 遺伝子異常を標的とする薬剤の実用化によりこれら遺伝子変異の臨床的意義の変化も予想される。また, 網羅的な遺伝子変異解析による治療後の残存病変評価の有効性も報告され, 治療反応性に基づく予後予測, 治療法の選択への臨床応用も期待されている。

E 治療方法選択におけるクリニカルシーケンス

近年, 米国では AML における FLT3 遺伝子変異を標的とする, FLT3 阻害薬, IDH1/2 変異を対象とした IDH1 阻害薬, IDH2 阻害薬が承認され, その有効性が報告されている³⁾。わが国では, 現時点では初発 AML を対象とした分子標的薬は承認されていないものの, 診断時におけるクリニカルシーケンスの結果による臨床試験の選択を含めた治療層別化が期待される。また, 造血器腫瘍では, 治療抵抗期におけるクローン性変化も明らかになっており, 診断時のみならず再発難治期における遺伝子変異検索も望ましい。さらには, 分子標的薬に対する治療抵抗期において, 薬剤耐性に関わる遺伝子変異, BCR-ABL1 における T315I 変異, FLT3 遺伝子における F691L 変異などの出現も報告されており, このように治療抵抗期における網羅的な遺伝子変異解析も新たな標的分子異常の探索のみならず, 薬剤選択においても有用であろう。

F エビデンス**1] Mody RJ, et al. (JAMA. 2015; 314: 913–25)⁹⁾**

目的▶ 小児，若年がん患者の評価および治療におけるクリニカルシーケンスならびに遺伝カウンセリングの有効性を評価する。

方法▶ 単一施設で102人の小児，若年成人の再発・難治がん，または稀少がんを対象にエクソーム解析とトランスクリプトーム解析が行われ，Potentially actionable findings (PAF) が同定された患者の割合，クリニカルシーケンスに基づいた治療介入の結果，および家族も含めた将来的な腫瘍罹患の危険性について検討された。

結果▶ 全体で91例で最終的な解析が行われ，うち42人例（46%），血液悪性腫瘍28例中15例（54%），固形腫瘍63例中27例（43%）でPAFが同定され，91例中23例（25%）で，その結果に基づいた個別化介入が行われた。その内訳は，14例（15%）の治療変更，9例（10%）の将来的な遺伝性腫瘍のリスクに関する遺伝カウンセリングであった。91例中9例（10%）では治療介入により，8～16カ月の部分寛解，6～21カ月の完全寛解が得られた。

結論▶ 単一施設での検討ではあるが，再発・難治性腫瘍を対象としたクリニカルシーケンスの実臨床への応用は可能であり，46%の患者で潜在的に実行可能な所見が明らかになった。

2] Yasuda T, et al. (Cancer Sci. 2020; 111: 3367–78)¹⁰⁾

目的▶ 日本の多施設共同研究により，AML，急性リンパ性白血病，多発性骨髄腫，びまん性大細胞型リンパ腫の造血器腫瘍を対象としたクリニカルシーケンス研究におけるパネルシーケンスの実行可能性を検証した。

方法▶ 成人AML 25例を含む造血器悪性腫瘍患者100例で，330遺伝子を対象としたターゲットキャプチャー法による遺伝子変異解析，染色体コピー数解析が行われ，PAFの同定頻度が検討された。

結果▶ AMLを含む造血器腫瘍96例中79例（82%）でPAFが同定された。うち，診断に関して60例（63%），予後に関して61例（64%），治療に関しては8例（8%）であった。また，3例で*DDX41*，*BRCA2*の生殖細胞系列変異が同定された。

結論▶ 造血器腫瘍を対象としたパネルシーケンスは診断，予後について有用な情報を提供しうることが示された。

G 根拠となった臨床研究の問題点と限界

診断，予後層別化に関して，パネル遺伝子解析によるクリニカルシーケンスの有用性は非常に高い一方で，治療の点においては候補となりうる薬剤の状況によって異なるのが現状であろう。1]で実行可能な所見が同定された骨髄性腫瘍AML，MDS 6例では，その対応として，*NRAS* 変異，*NFI* 変異に対するMEK阻害薬，*CSF3R* 変異に対するJAK阻害薬 ruxolitinib，*FLT3*

変異に対する FLT3 阻害薬があげられた。しかし、その 6 症例いずれにおいても、急速な病勢進行や参加可能な臨床試験がなかったこと、造血細胞移植の実施により寛解が得られたことなどにより候補治療は行われなかった。また、2」においても、シーケンス後 6 カ月までに、その結果に基づいた臨床試験への参加、同定された分子標的薬による治療が行われた症例はなかった。このように、クリニカルシーケンスに基づく治療介入の実施は、実際に候補となる薬剤が使用可能な状況にあるのかにより大きく異なる。また、AML ではその急速な病勢進行から、解析結果の報告までの期間も有効性を規定する重要な因子となりうるであろう。

H 本邦で患者に適応する際の留意点

このように、日本におけるクリニカルシーケンスの有効性が臨床研究により示されているが、現時点では造血器腫瘍を対象とした遺伝子変異解析パネル検査は保険収載されていない。また、治療標的となりうる遺伝子異常が同定され、候補薬剤が存在したとしても、その承認状況、適応症は各国で異なり、国内での対象疾患に対する承認状況を踏まえた上での適正な薬剤使用について留意する必要がある。

I コメント

クリニカルシーケンスに基づく新たな治療法の可能性、予後の改善には新規治療薬の臨床開発が不可欠である。今後、AML をはじめとする骨髄性腫瘍を対象とする分子標的療法の開発とともに、クリニカルシーケンスの有用性もさらに高まると考えられる。

文献

- 1) Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2016; 374: 2209-21.
- 2) Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017; 129: 424-47.
- 3) NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines[®]) acute myeloid leukemia version 3.2020-december 23, 2019. <https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/aml.pdf>
- 4) Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016; 127: 2391-405.
- 5) Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer a joint consensus recommendation of the association for molecular pathology, American Society Clinical Oncol, and College of American Pathologists. *J Molecular Diagnostics.* 2017; 19: 4-23.
- 6) 一般社団法人 日本血液学会, 編. 造血器腫瘍ゲノム検査ガイドライン 2020 年度版. 2020. <<http://www.jshem.or.jp/genomgl/home.html>>
- 7) Harada Y, Nagata Y, Kihara R, et al. Prognostic analysis according to the 2017 ELN risk stratification by genetics in adult acute myeloid leukemia patients treated in the Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) AML201 study. *Leukemia Research.* 2018; 66 (Lancet 368 9550 2006): 20-7.
- 8) Richard-Carpentier G, DiNardo CD. Single-agent and combination biologics in acute myeloid