

*TERT* および *JAK2* 遺伝子多型は  
日本人骨髄増殖性腫瘍発症の  
遺伝的素因となる

氏名 松隈 雅史

所属 山口大学大学院医学系研究科

医学専攻 病態制御内科学分野

令和 1 年 12 月

## 目 次

1. 要旨	3
2. 研究の背景	3
3. 目的	6
4. 方法	6
(1) 患者背景	6
(2) 一塩基多型・ドライバー遺伝子変異の検出方法	7
(3) デジタル PCR 法による遺伝子変異量の検出方法	8
(4) 統計学的解析方法	8
5. 結果	9
(1) 骨髄増殖性腫瘍と遺伝子多型の関係	9
(2) ドライバー遺伝子変異と遺伝子多型の関係	12
(3) 人口寄与危険度について	14
(4) <i>JAK2</i> V617F 遺伝子変異量と遺伝子多型の関係	15
(5) 遺伝子多型と人口統計および臨床検査結果の関係	16
6. 考察	17
7. 結語	19
8. 謝辞	19
9. 参考文献	19

## 1. 要旨

Telomerase reverse transcriptase gene (*TERT*) 遺伝子の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) rs2736100 や *JAK2* 遺伝子多型 (46/1 ハプロタイプ) が骨髄増殖性腫瘍 (Myeloproliferative neoplasm, MPN) の発症に関連することが海外で報告されている。しかし、日本人において、MPN 発症とこれらの遺伝子多型の関連は不明である。そこで、MPN 患者 201 名と健常ドナー 336 名から末梢血白血球より DNA を抽出し、*TERT* rs2736100 および *JAK2* 46/1 ハプロタイプの指標となる *JAK2* rs10974944 SNP の解析を行い、検討を行った。更に *JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者 134 名の遺伝子変異量をデジタル PCR 法で測定し、*JAK2* V617F 遺伝子変異量と遺伝子多型との関連を検討した。MPN 患者では海外からの報告と同様に *TERT* rs2736100\_C アリル、*JAK2* rs10974944\_G アリルを有する頻度が有意に高かった (各々オッズ比: 1.8, 2.6)。*JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者において *TERT* rs2736100 は、各ジェノタイプ間で *JAK2* V617F 変異量に有意差を認めなかったが、*JAK2* rs10974944 では、GG が CC や CG ジェノタイプと比較して有意に変異量高値を認めた(中央値(%), CC: 37.7%, CG: 35.7%, GG: 82.2%)。日本人 MPN 患者においてもこの 2 つの遺伝子多型は、発症と関連していた。すなわち MPN 発症には人種に関わらず遺伝的素因が関与していると考えられた。また *JAK2* 遺伝子多型にのみ、*JAK2* V617F 変異量と関連を認めた。*TERT* 遺伝子多型は MPN 全体の発症に、*JAK2* 遺伝子多型は特に *JAK2* V617F 変異陽性 MPN 発症に関連があるものと考えられた。

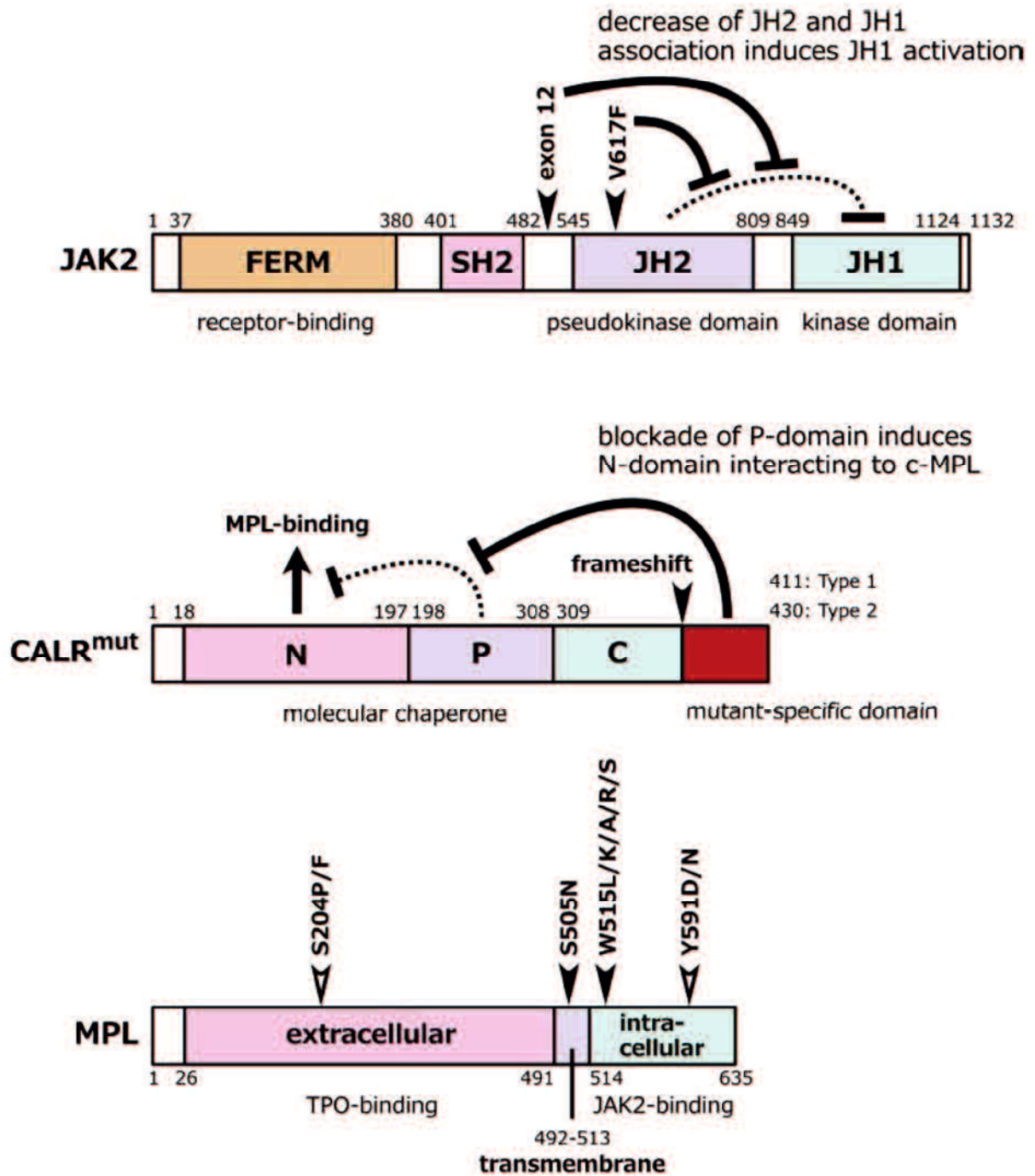
## 2. 研究の背景

骨髄増殖性腫瘍 (Myeloproliferative neoplasm, MPN) には、クローン性の造血と主に成熟末梢血細胞の増加を特徴とする複数の血液悪性腫瘍が含まれる<sup>1)</sup>。最も一般的な *BCR-ABL1* 陰性 MPN には真性多血症 (Polycythemia vera, PV)、本態性血小板血症 (Essential thrombocythemia, ET)、原発性骨髄線維症 (Primary myelofibrosis, PMF) がある。PV、ET、PMF の 3 疾患は、その臨床像の共通点から「骨髄増殖性疾患」として古くからまとめられてきたが、これらの 3 疾患は共通して JAK-STAT シグナル伝達系の異常を認めることが判明し、遺伝子変異という観点からも同一の疾患群であることが明らかとなった<sup>2)</sup>。PV の 95%、ET や PMF の約半数に Janus kinase 2 (*JAK2*) の 617 番目の Valine (V) から Phenylalanine (F) へ置換する変異を認める<sup>3)4)</sup> (Fig. 1)。*JAK2* は、エリスロポエチン (erythropoietin, EPO)、顆粒球コロニー刺激因子、 trombopoietin (TPO) などのサイトカイン刺激により一過性に活性化されるチロシンキナーゼであり、造血細胞の増殖に必須な役割を果たしている。ホモ 2 量体を形成している受容体により *JAK2* 分子同士が対面し、相互にリン酸化することで活性化状態になる。活性化した *JAK2* は、下流のシグナル伝達分子である STAT、ERK、AKT をリン酸化することで、シグナルを細胞内に伝達する<sup>4)</sup> (Fig. 2)。V617F 変異は、JH1 ドメインにより担われている *JAK2* のキナーゼ活性を抑制している JH2 ドメインの中に位置しており (Fig. 1)、V617F 変異が生じると、JH2 による JH1 の抑

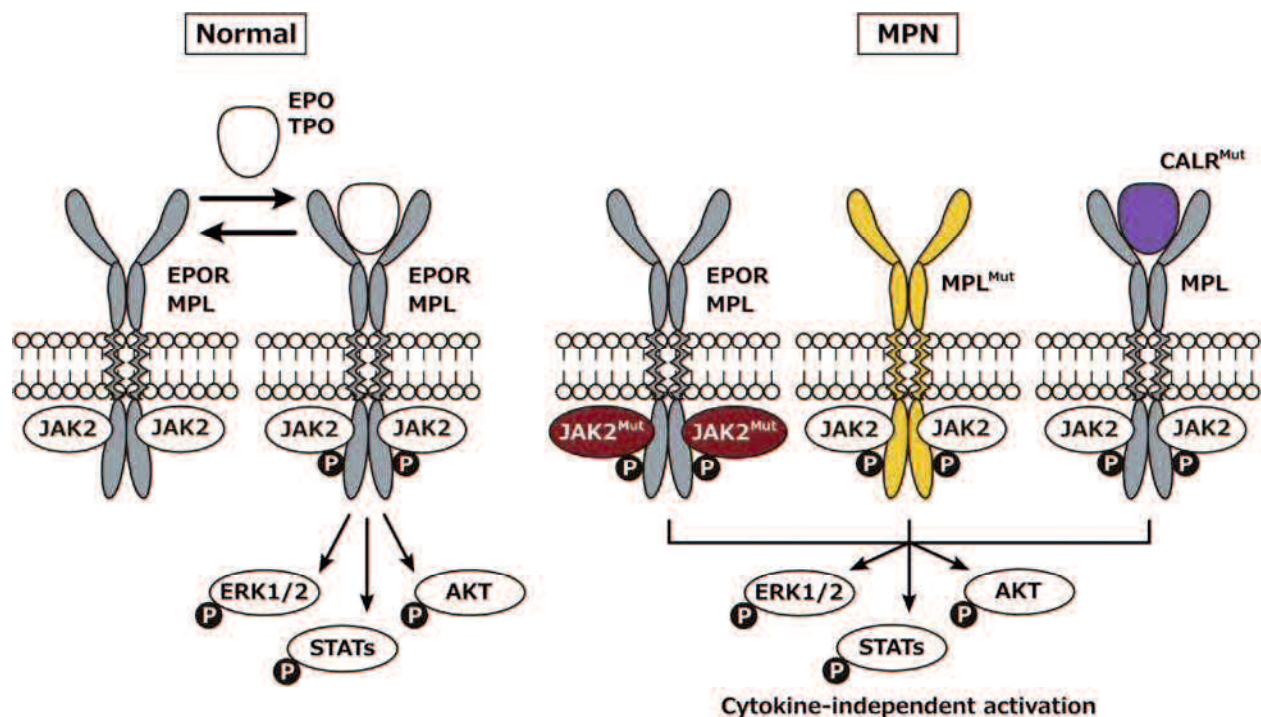
制が外れることにより、サイトカインの刺激がなくとも JAK2 チロシンキナーゼの恒常的な活性化により、細胞増殖を促進させる<sup>5)</sup>。V617F 変異以外の JAK2 遺伝子としては、PV に特異的に見出される exon 12 変異がある。V617F 変異と同様に、チロシンキナーゼの恒常的な活性化を引き起こし、PV の 1~5%にみられる<sup>6)</sup>。JAK2 以外には、小胞体の分子シャペロンの一つである calreticulin (CALR) の変異が ET、PMF の 20~30%に、TPO のレセプターである thrombopoietin receptor (MPL) の膜貫通部位での変異が ET、PMF の 3~8%にみられる<sup>7)</sup>。CALR 遺伝子変異は、exon 9 の蛋白質翻訳領域における塩基の欠失か挿入によるフレームシフト変異であり、52 塩基欠失あるいはその類似型を含む Type1 と、5 塩基挿入あるいはその類似型を含む Type2 に分類される(Fig. 1)。CALR 変異により、CALR 全体の構造変化を惹起し、TPO 受容体 MPL と相互作用し、下流の JAK2 を恒常的に活性化することで、巨核球の異常な増殖や分化を引き起こす<sup>4)8)</sup>(Fig. 1 および 2)。また、MPL 遺伝子変異は主に exon 10 における点突然変異であり、その約 3/4 が MPL の 515 番目の Tryptophan (W) が、それぞれ Leucine (L)と Lysine (K) に置換する変異である(Fig. 1)。MPL 変異により、サイトカインの刺激がなくとも TPO レセプターが 2 量体を形成し、それ以降の JAK2-STAT シグナル伝達系が恒常的に活性化される<sup>4)9)</sup>(Fig. 2)。このような遺伝子変異、すなわち JAK2 V617F 変異、JAK2 遺伝子 exon12 変異、CALR 遺伝子 exon9 変異、MPL 遺伝子 exon10 変異は、上記のように JAK-STAT シグナル伝達系を恒常的に活性化させ、細胞の無秩序な増殖を促すドライバー遺伝子変異と呼ばれる。これらの変異は WHO 分類の診断基準<sup>10)</sup>にも含まれており、通常相互排他的である。

一方で MPN の発症と遺伝的素因には様々な報告があり、欧米にて JAK2 遺伝子の「46/1」と呼ばれるハプロタイプと JAK2 V617F 変異陽性 MPN の発症に強い関連があることが報告<sup>11)12)</sup>され、日本人でも同様の関連があることを我々は報告した<sup>13)</sup>。近年、テロメア長を調整する酵素であるテロメラーゼを構成するサブユニットのひとつである telomerase reverse transcriptase gene (TERT) の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) rs2736100 が MPN に関連することが海外で報告されている<sup>14)15)</sup>。しかし、本邦では TERT 遺伝子多型と MPN 発症の関連についての報告はない。

また、海外では JAK2 V617F 変異量と MPN の血液学的特徴や臨床経過との関連が報告<sup>16)</sup>され、遺伝子変異量も注目されている。例えば、真性多血症において、JAK2 V617F 変異量が多いほど、二次性骨髄線維症への移行リスクが高いとされている<sup>9)</sup>。これまで JAK2 遺伝子変異量はリアルタイム polymerase chain reaction (PCR)法による定量的な評価が主に行われてきた。近年、スタンダードサンプルが不要で、より正確に変異量測定が可能なデジタル PCR 法が用いられるようになってきた<sup>17)</sup>。そこで我々は JAK2 V617F 変異量をデジタル PCR 法によって評価し、TERT および JAK2 遺伝子多型との関連について検討した。



**Fig. 1** JAK2、CALR、MPL 変異蛋白の構造 (参考文献 4 を引用)  
 \*黒および白の矢尻が変異の箇所



**Fig. 2** 骨髄増殖性腫瘍におけるドライバー遺伝子変異によるエリスロポエチン受容体および тромбоポエチン受容体の恒常的活性化のモデル(参考文献 4 を引用)

### 3. 目的

日本人 MPN 患者において、*TERT* rs2736100 SNP および *JAK2* 46/1 ハプロタイプとの関連を検討することとした。*JAK2* 46/1 ハプロタイプに関しては、以前に報告した 108 名から 201 名に MPN 患者を増やして検討した。*JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者の変異量とこれらの遺伝子多型との関連を、デジタル PCR 法を用いて検討することとした。

### 4. 方法

#### 4.(1) 患者背景

2008 年から 2016 年の間に山口大学医学部附属病院および関連病院にて MPN と診断した 201 名の日本人患者について検討を行った。2008 年の WHO 分類によって診断を行い、真性多血症 52 名、本態性血小板血症 131 名、原発性骨髄線維症 18 名であった。患者の主要な背景を Table 1 に示す。コントロールとして、336 名の年齢及び性別を一致させた健康な日本人ボランティアを用いた。今回の研究は、山口大学医学部附属病院および関連病院の研究倫理審査委員会に承認されており、研究参加に当たり書面による同意を得た。

**Table 1** 骨髄増殖性腫瘍患者の背景

	PV ( <i>n</i> = 52)	ET ( <i>n</i> = 131)	PMF ( <i>n</i> = 18)	MPN overall ( <i>n</i> = 201)
Median age; years (range)	68 (28-85)	67 (26-93)	65.5 (37-80)	67 (26-93)
Sex (male), <i>n</i> (%)	28 (53.8)	72 (55)	10 (55.6)	110 (54.7)
<i>JAK2</i> V617F, <i>n</i> (%)	49 (94.2)	76 (58)	6 (33.3)	131 (65.2)
<i>JAK2</i> exon 12 mutations, <i>n</i> (%)	3 (5.8)	-	-	3 (1.5)
<i>CALR</i> mutations, <i>n</i> (%)	-	27 (20.6)	7 (38.9)	34 (16.9)
<i>MPL</i> mutations, <i>n</i> (%)	-	4 (3.1)	1 (5.6)	5 (2.5)
Triple-negative, <i>n</i> (%)	-	24 (18.3)	4 (22.2)	28 (13.9)

MPN, myeloproliferative neoplasm; PV, polycythemia vera; ET, essential thrombocythemia; PMF, primary myelofibrosis

#### 4.(2) 一塩基多型・ドライバー遺伝子変異の検出方法

遺伝子型決定のため参加者から末梢血検体を集め、白血球 DNA をヨウ化ナトリウム法で抽出した。SNP は、TaqMan assay を用いて同定した。プライマーと蛍光プローブのセットは rs2736100 (*TERT*)、rs10974944 (*JAK2*)を増幅するようにそれぞれ TaqMan SNP genotyping assay の C\_1844009\_10、C\_31941696\_10 を用いて検出した (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA)。PCR 産物の検出は Applied Biosystems ViiA7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) を用いた。PCR は以下の条件で施行した。すなわち、95°Cで 10 分間の後、95°C15 秒間と 60°C60 秒間を 40 サイクル行った。

ドライバー遺伝子変異 (*JAK2* V617F, *JAK2* exon 12, *CALR*, *MPL*) の同定はダイレクトシーケンス法を用いて行った<sup>13)18)-20)</sup>。変異部位を含むプライマーの設定は、以下の通りとした。すなわち、*JAK2* exon 14 のフォワードプライマーは 5'-TTCCTTAGTCTTTCTTTGAAGCA-3'、リバープライマーは 5'-TTTACACTGACACCTAGCTG-3'、*JAK2* exon 12 のフォワードプライマーは 5'-GAGTTGACCCCTAAAATAAT-3'、リバープライマーは 5'-TTCCAATGTCACATGAATG-3'、*CALR* のフォワードプライマーは 5'-ACAACCTCCTCATCACCAACG-3'、リバープライマーは 5'-GGCCTCAGTCCAGCCCTG-3'、*MPL* のフォワードプライマーは 5'-TAGGGGCTGGCTGGATGAGG-3'、リバープライマーは 5'-GGGTCACAGAGCGAACCAAG-3'とした。PCR は以下の条件で施行した。すなわち、

95°Cで5分間の後、95°C30秒間と56~64°C（プライマー毎に変更）30秒間、72°C30秒間を30~39サイクル行ない、その後72°Cで7分間施行した。シーケンス反応はBigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いて行い、反応生成物の解析はABI Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems) を用いて反応させた。

#### 4.(3) デジタル PCR 法による遺伝子変異量の検出方法

*JAK2V617F* 変異陽性 MPN 患者において、*JAK2V617F* 遺伝子変異量をデジタル PCR 法により評価した。デジタル PCR 法は既報の如く<sup>21)</sup>施行した。RroFlex™ PCR System、automatic chip loader、そして QuantStudio 3D Instrument から構成される QuantStudio™ 3D Digital PCR System platform (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を使用した。TaqMan assay (COSMIC ID 12600, Assay ID Hs0000000\_rm; Thermo Fisher Scientific)を用いて *JAK2V617F* 変異を同定し、野生型およびV617F変異型プローブは、それぞれVICまたはFAMの蛍光色素 (Thermo Fisher Scientific) でラベルしたものをを用いた。2倍に希釈した7.5 µlの QuantStudio™ 3D Digital PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific)、40倍に希釈した0.375 µlの TaqMan assay、20 ng/µlに希釈した1 µlのゲノムDNA、そして6.125 µlの自由水を含んだ合計15 µlの反応液を調整した。その反応液のうち、14.5 µlを automatic chip loader を使用して、QuantStudio™ 3D Digital PCR 20 K Chip (Thermo Fisher Scientific) に載せた。その後、RroFlex™ PCR System を用いて、以下の通りの条件にて PCR を施行した。すなわち、96°Cで10分間の後、60°C2分間と98°C30秒間を39サイクル行ない、その後60°Cで2分間反応させた。QuantStudio™ 3D AnalysisSuite™ Cloud Software にて定量的データの解析を行った。

#### 4.(4) 統計学的解析方法

質的変数の分布比較は Fisher の正確検定を用いた。正規分布をしていない量的変数の比較は、Mann-Whitney または Kruskal-Wallis 検定を用いた。すべての統計学的解析は EZR を用いて行った<sup>22)</sup>。 $P < 0.05$ を統計学的に有意な差があると判断した。また、人口寄与危険度 (population attributable risk; PAR)を計算した。 $PAR = (X - 1/X)100$ 、 $X = (1-p)^2 + 2p(1-p)odds\ ratio\ (OR)_1 + p^2OR_2$ にて求めた<sup>23)</sup> ( $p$ はコントロールでのリスクアリの頻度、 $OR_1$ および $OR_2$ はリスクアリを有さないホモ接合型ジェノタイプと比較しての、ヘテロ接合型あるいはリスクアリを有するホモ接合型ジェノタイプのオッズ比。)。Combined PAR はそれぞれの PAR を組み混んで計算した。すなわち、 $PAR = (1-PAR_1)(1-PAR_2)$ として求めた<sup>23)</sup>。



## 5. 結果

### 5.(1) 骨髄増殖性腫瘍と遺伝子多型の関係

MPN およびコントロールにおける *TERT*rs2736100 および *JAK2*46/1 ハプロタイプの役割を確認するために、*TERT*rs2736100 および *JAK2*46/1 ハプロタイプの標識となる *JAK2* rs10974944 のアリル頻度の比較を、それぞれのコホートで行った。MPN201名の *TERT*rs2736100 SNP のジェノタイプについては、37名 (18.4%) が A/A、108名 (53.7%) が A/C、56名 (27.9%) が C/C であった。一方コントロールの366名については、134名 (36.6%) が A/A、173名 (47.3%) が A/C、59名 (16.1%) が C/C であった (Table 2a)。リスクアリルを有するホモ接合型ジェノタイプおよびヘテロ接合型ジェノタイプ (C/C と A/C) は、MPN 患者ではコントロールと比較して有意に高頻度であった (オッズ比, 2.6; 95%信頼区間, 1.7-4.0;  $p < 0.001$ )。また、C アリルは、MPN 患者ではコントロールと比較して有意に高頻度であった (オッズ比, 1.8; 95%信頼区間, 1.4-2.4;  $p < 0.001$ )。次に *TERT*rs2736100 SNP と MPN の各病型、すなわち PV、ET、PMF をコントロールと比較した。C アリルの頻度はコントロールと比較し、PV (オッズ比, 3.1; 95%信頼区間, 2.0-5.0;  $p < 0.001$ )、ET (オッズ比, 1.6; 95%信頼区間, 1.2-2.1;  $p < 0.001$ ) で有意に高かったが、PMF では有意な差を認めなかった (オッズ比, 1.4; 95%信頼区間, 0.6-3.5;  $p = 0.39$ )。また、PV および ET 患者では、コントロールに比較して C/C と A/C ジェノタイプの頻度が高かった (PV: オッズ比, 6.9; 95%信頼区間, 2.4-27.0;  $p < 0.001$ , ET: オッズ比, 2.1; 95%信頼区間, 1.3-3.5;  $p = 0.002$ ) (Table 3a)。

一方、*JAK2*rs10974944 SNP のジェノタイプについては、64名 (31.8%) が C/C、82名 (40.8%) が C/G、55名 (27.4%) が G/G で、コントロールは、206名 (56.3%) が C/C、127名 (34.7%) が C/G、33名 (9%) が G/G であった (Table 2b)。リスクアリルを有するホモ接合型ジェノタイプおよびヘテロ接合型ジェノタイプ (G/G と C/G) は、MPN 患者ではコントロールと比較して有意に高頻度であった (オッズ比, 2.8; 95%信頼区間, 1.9-4.0;  $p < 0.001$ )。また、G アリルは、MPN 患者ではコントロールと比較して有意に高頻度であり (オッズ比, 2.6; 95%信頼区間, 2.0-3.3;  $p < 0.001$ )、病型毎、すなわち PV (オッズ比, 5.0; 95%信頼区間, 3.2-8.0;  $p < 0.001$ ) ET (オッズ比, 1.9; 95%信頼区間, 1.4-2.5;  $p < 0.001$ ) PMF (オッズ比, 3.5; 95%信頼区間, 1.7-7.4;  $p < 0.001$ ) においても有意に高頻度であった (Table 3b)。

**Table 2** 疾患毎の MPN およびコントロールの *TERT* rs2736100 (a) および *JAK2* rs10974944 (b) 遺伝子多型の頻度

<b>a</b>					
Genotype/allele	PV (n = 52), (%)	ET (n = 131), (%)	PMF (n = 18), (%)	MPN overall (n = 201), (%)	Controls (n = 366), (%)
<b>Genotypes</b>					
A/A	4 (7.7)	28 (21.4)	5 (27.8)	37 (18.4)	134 (36.6)
A/C	26 (50)	73 (55.7)	9 (50)	108 (53.7)	173 (47.3)
C/C	22 (42.3)	30 (22.9)	4 (22.2)	56 (27.9)	59 (16.1)
<b>Alleles</b>					
A allele	34 (32.7)	129 (49.2)	19 (52.8)	182 (45.3)	441 (60.2)
C allele	70 (67.3)	133 (50.8)	17 (47.2)	220 (54.7)	291 (39.8)
<b>b</b>					
Genotype/allele	PV (n = 52), (%)	ET (n = 131), (%)	PMF (n = 18), (%)	MPN overall (n = 201), (%)	Controls (n = 366), (%)
<b>Genotypes</b>					
C/C	8 (15.4)	52 (39.7)	4 (22.2)	64 (31.8)	206 (56.3)
C/G	21 (40.4)	53 (40.5)	8 (44.5)	82 (40.8)	127 (34.7)
G/G	23 (44.2)	26 (19.8)	6 (33.3)	55 (27.4)	33 (9)
<b>Alleles</b>					
C allele	37 (35.6)	157 (59.9)	16 (44.4)	210 (52.2)	539 (73.6)
G allele	67 (64.4)	105 (40.1)	20 (55.6)	192 (47.8)	193 (26.4)

*TERT*, telomerase reverse transcriptase gene; *PV*, polycythemia vera; *ET*, essential thrombocythemia; *PMF*, primary myelofibrosis; *MPN*, myeloproliferative neoplasm

**Table 3** 疾患毎の MPN と *TERT* rs2736100 (a) および *JAK2* rs10974944 (b) 遺伝子多型との関係

**a**

rs2736100 genotype/allele	PV vs. controls	ET vs. controls	PMF vs. controls	MPN overall vs. controls
	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)
	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value
C/C vs. A/A	12.3 (4.0-51.5) < 0.001	2.4 (1.3-4.6) 0.005	1.8 (0.3-8.7) 0.46	3.4 (2.0-6.0) < 0.001
A/C vs. A/A	5.0 (1.7-20.2) 0.001	2.0 (1.2-3.4) 0.005	1.4 (0.4-5.4) 0.60	2.3 (1.4-3.6) < 0.001
C/C+A/C vs. A/A	6.9 (2.4-27.0) < 0.001	2.1 (1.3-3.5) 0.002	1.5 (0.5-5.5) 0.62	2.6 (1.7-4.0) < 0.001
C allele vs. A allele	3.1 (2.0-5.0) < 0.001	1.6 (1.2-2.1) 0.002	1.4 (0.6-2.8) 0.39	1.8 (1.4-2.4) < 0.001

**b**

rs10974944 genotype/allele	PV vs. controls	ET vs. controls	PMF vs. controls	MPN overall vs. controls
	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)	OR (95% CI)
	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value
G/G vs. C/C	17.6 (6.9-49.7) < 0.001	3.1 (1.6-5.9) < 0.001	9.2 (2.1-46.9) 0.001	5.3 (3.1-9.3) < 0.001
C/G vs. C/C	4.2 (1.7-11.4) < 0.001	1.7 (1.0-2.6) 0.031	3.2 (0.8-15.0) 0.068	2.1 (1.4-3.1) < 0.001
G/G+C/G vs. C/C	7.1 (3.2-17.8) < 0.001	2.0 (1.3-3.0) 0.002	4.5 (1.4-19.1) 0.006	2.8 (1.9-4.0) < 0.001
G allele vs. C allele	5.0 (3.2-8.0) < 0.001	1.9 (1.4-2.5) < 0.001	3.5 (1.7-7.4) < 0.001	2.6 (2.0-3.3) < 0.001

*TERT*, telomerase reverse transcriptase gene; *PV*, polycythemia vera; *ET*, essential thrombocythemia; *PMF*, primary myelofibrosis; *MPN*, myeloproliferative neoplasm; *OR*, Odds ratio; *CI*, confidence interval

## 5.(2) ドライバー遺伝子変異と遺伝子多型の関係

次に、この2つの遺伝子多型のドライバー遺伝子毎における分布を評価した。すなわち、*JAK2*V617F 変異、*JAK2* exon 12 変異、*CALR* 変異、*MPL* 変異をそれぞれ有する患者、およびこれらのドライバー遺伝子変異を有さない triple-negative の患者それぞれについて、*TERT*rs2736100 および *JAK2*rs10974944 SNP の分布を検討した (Table 4)。*TERT*rs2736100 SNP のジェノタイプについては、リスクアリルを有するホモ接合型ジェノタイプおよびヘテロ接合型ジェノタイプ (C/C と A/C) は、*JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 2.9; 95%信頼区間, 1.7-5.0;  $p < 0.001$ ) および *CALR* 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 3.3; 95%信頼区間, 1.2-11.3;  $p = 0.013$ ) で、コントロールと比較して有意に高頻度であった。また、C アリルは、*JAK2*V617F 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 2.1; 95%信頼区間, 1.6-2.8;  $p < 0.001$ ) および *CALR* 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 1.9; 95%信頼区間, 1.1-3.3;  $p = 0.014$ ) で、コントロールと比較して有意に高頻度であった (Table 5a)。

一方、*JAK2* rs10974944 SNP のジェノタイプについては、リスクアリルを有するホモ接合型ジェノタイプおよびヘテロ接合型ジェノタイプ (G/G と C/G) は、*JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 3.3; 95%信頼区間, 2.1-5.2;  $p < 0.001$ ) および *CALR* 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 2.4; 95%信頼区間, 1.1-5.4;  $p = 0.029$ ) で、コントロールと比較して有意に高頻度であった。また、G アリルは、*JAK2*V617F 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 3.0; 95%信頼区間, 2.2-4.1;  $p < 0.001$ ) および *CALR* 変異陽性 MPN 患者 (オッズ比, 2.2; 95%信頼区間, 1.3-3.8;  $p = 0.003$ ) で、コントロールと比較して有意に高頻度であった (Table 5b)。

triple-negative の MPN 患者では、コントロールと比較して *TERT*rs2736100 および *JAK2*rs10974944 SNP の分布に有意差を認めなかった (Table 5a, 5b)。また、*JAK2* exon 12 変異陽性および *MPL* 変異陽性患者は、人数が少なく、統計学的解析が困難であった。

**Table 4** ドライバー遺伝子変異で分類した MPN での *TERT* rs2736100 (a) および *JAK2* rs10974944 (b) 遺伝子多型の頻度

**a**

Genotype/ allele	<i>JAK2</i> V617F positive MPNs ( <i>n</i> = 131), (%)	<i>JAK2</i> exon12 positive MPNs ( <i>n</i> = 3), (%)	<i>CALR</i> positive MPNs ( <i>n</i> = 34), (%)	<i>MPL</i> positive MPNs ( <i>n</i> = 5), (%)	Triple-negative MPNs ( <i>n</i> = 28), (%)
Genotypes					
A/A	22 (16.8)	1 (33.3)	5 (14.7)	0 (0)	9 (32.1)
A/C	66 (50.4)	2 (66.7)	20 (58.8)	4 (80)	16 (57.2)
C/C	43 (32.8)	0 (0)	9 (26.5)	1 (20)	3 (10.7)
Alleles					
A allele	110 (42)	4 (66.7)	30 (44.1)	4 (40)	34 (60.7)
C allele	152 (58)	2 (33.3)	38 (55.9)	6 (60)	22 (39.3)

**b**

Genotype/ allele	<i>JAK2</i> V617F positive MPN ( <i>n</i> = 131), (%)	<i>JAK2</i> exon12 positive MPN ( <i>n</i> = 3), (%)	<i>CALR</i> positive MPN ( <i>n</i> = 34), (%)	<i>MPL</i> positive MPN ( <i>n</i> = 5), (%)	Triple-negative MPN ( <i>n</i> = 28), (%)
Genotypes					
C/C	37 (28.2)	0 (0)	12 (35.3)	2 (40)	13 (46.4)
C/G	52 (39.7)	3 (100)	14 (41.2)	2 (40)	11 (39.3)
G/G	42 (32.1)	0 (0)	8 (23.5)	1 (20)	4 (14.3)
Alleles					
C allele	126 (48.1)	3 (50)	38 (55.9)	6 (60)	37 (66.1)
G allele	136 (51.9)	3 (50)	30 (44.1)	4 (40)	19 (33.9)

*TERT*, telomerase reverse transcriptase gene; *SNP*, single nucleotide polymorphism; *MPN*, myeloproliferative neoplasm

**Table 5** ドライバー遺伝子変異毎での MPN と *TERT* rs2736100 (a) および *JAK2* rs10974944 (b) 遺伝子多型との関係

**a**

rs2736100 genotype/allele	V617F-positive MPN vs. controls		<i>CALR</i> positive MPN vs. controls		Triple-negative MPN vs. controls	
	OR (95% CI)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
C/C vs. A/A	4.4 (2.3-8.5)	< 0.001	4.1 (1.2-16.1)	0.016	0.8 (0.1-3.2)	1.0
A/C vs. A/A	2.3 (1.3-4.2)	0.002	3.1 (1.1-10.8)	0.021	1.4 (0.6-3.6)	0.53
C/C+A/C vs. A/A	2.9 (1.7-5.0)	< 0.001	3.3 (1.2-11.3)	0.013	1.2 (0.5-3.1)	0.69
C allele vs. A allele	2.1 (1.6-2.8)	< 0.001	1.9 (1.1-3.3)	0.014	1.0 (0.5-1.8)	1.0

**b**

rs10974944 genotype/allele	V617F-positive MPN vs. controls		<i>CALR</i> positive MPN vs. controls		Triple-negative MPN vs. controls	
	OR (95% CI)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
G/G vs. C/C	7.0 (3.8-13.1)	< 0.001	4.1 (1.4-12.0)	0.006	1.9 (0.4-6.7)	0.28
C/G vs. C/C	2.3 (1.4-3.8)	< 0.001	1.9 (0.8-4.6)	0.14	1.4 (0.5-3.4)	0.52
G/G+C/G vs. C/C	3.3 (2.1-5.2)	< 0.001	2.4 (1.1-5.4)	0.029	1.5 (0.6-3.5)	0.33
G allele vs. C allele	3.0 (2.2-4.1)	< 0.001	2.2 (1.3-3.8)	0.003	1.4 (0.8-2.6)	0.22

*TERT*, telomerase reverse transcriptase gene; *MPN*, myeloproliferative neoplasm; *OR*, Odds ratio; *CI*, confidence interval

### 5.(3) 人口寄与危険度について

日本人の集団レベルにおいて、それぞれの遺伝子多型が MPN 発症にどの程度の割合で寄与しているのかを評価するため、これまでの結果をもとに、PAR および Combined PAR を算出した (Table 6)。MPN 患者全体では、*TERT* rs2736100 が 50.0% と高く、*JAK2* rs10974944 が 42.1% と続き、Combined PAR は 71.1% であった。また、疾患毎の解析では、PV において両多型とも最も高く、*TERT* rs2736100 が 78.8%、*JAK2* rs10974944 が 70.6%、Combined PAR は 93.8% であった。ドライバー遺伝子変異毎の解析では、*JAK2* V617F 変異陽性 MPN において、両多型は同程度の PAR であり、*TERT* rs2736100 が 53.7%、*JAK2* rs10974944 が 48.0%、Combined PAR は 75.9% であった。*CALR* 変異陽性 MPN においては、*TERT* rs2736100 が 60.0% と高く、*JAK2* rs10974944 が 36.1% と続き、Combined PAR は 74.4% であった。

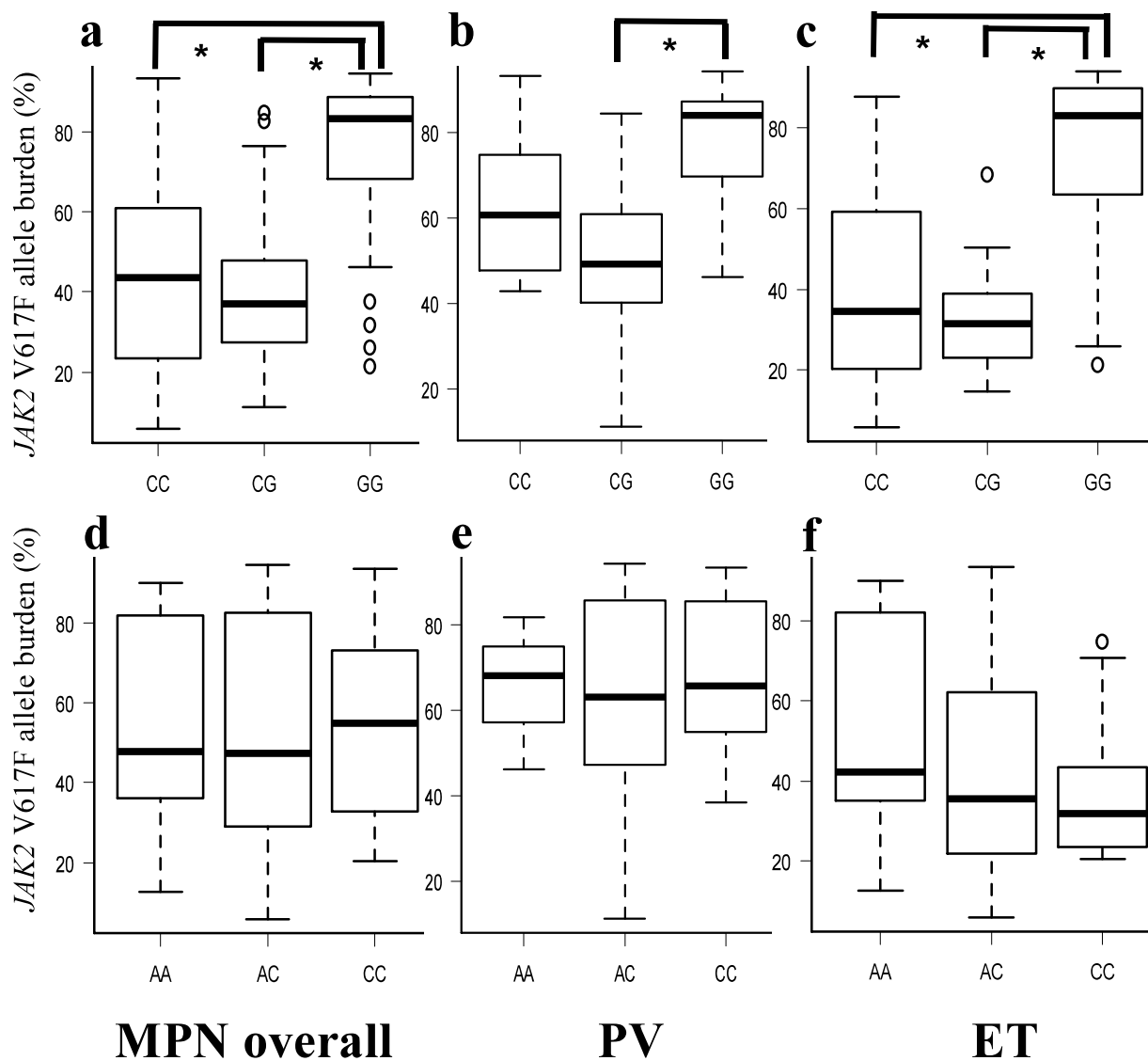
**Table 6** *TERT* rs2736100 および *JAK2* rs10974944 遺伝子多型の PAR および Combined PAR

PAR (%)	MPN overall	PV	ET	PMF	V617F-positive MPN	<i>CALR</i> positive MPN	Triple-negative MPN
<i>TERT</i> rs2736100	50.0	78.8	41.2	24.2	53.7	60.0	13.8
<i>JAK2</i> rs10974944	42.1	70.6	29.5	58.8	48.0	36.1	17.9
Combined	71.1	93.8	58.6	68.7	75.9	74.4	29.2

*PAR*, population attributable risks; *TERT*, telomerase reverse transcriptase gene; *MPN*, myeloproliferative neoplasm; *PV*, polycythemia vera; *ET*, essential thrombocythemia; *PMF*, primary myelofibrosis

#### 5.(4) *JAK2* V617F 遺伝子変異量と遺伝子多型の関係

次に、デジタル PCR 法を用いて測定した診断時の *JAK2* V617F 遺伝子変異量と *JAK2* rs10974944 および *TERT* rs2736100 ジェノタイプの関係について検討した。*JAK2* V617F 変異陽性 MPN を、3 つのジェノタイプに分類して検討した (Fig. 3)。*JAK2* rs10974944 については、*JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者において GG ジェノタイプが CC や CG ジェノタイプと比較して有意に *JAK2* V617F 変異量高値を認めた (中央値(%), CC: 37.7%, CG: 35.7%, GG: 82.2%, CC vs. GG;  $p < 0.001$ , CG vs. GG;  $p < 0.001$ )。また、*JAK2* V617F 変異陽性 ET 患者においても同様の結果であった(中央値(%), CC: 34.6%, CG: 31.6%, GG: 83.1%, CC vs. GG;  $p < 0.001$ , CG vs. GG;  $p < 0.001$ )。*JAK2* V617F 変異陽性 PV 患者においては GG ジェノタイプが CG ジェノタイプと比較して有意に *JAK2* V617F 変異量高値を認めたが、CC ジェノタイプとは有意差を認めなかった (中央値(%), CC: 60.7%, CG: 49.1%, GG: 84.1%, CC vs. GG;  $p = 0.11$ , CG vs. GG;  $p < 0.001$ )。このように *JAK2* 46/1 ハプロタイプをホモ接合体として有した場合、*JAK2* V617F 変異量高値と関連を認めた。一方で、*TERT* rs2736100 は、*JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者 (中央値(%), AA: 47.9%, AC: 47.3%, CC: 54.9%)、*JAK2* V617F 変異陽性 PV 患者 (中央値(%), AA: 68.3%, AC: 63.2%, CC: 65.9%)、*JAK2* V617F 変異陽性 ET 患者 (中央値(%), AA: 42.2%, AC: 35.4%, CC: 31.9%)、いずれにおいてもジェノタイプ間で *JAK2* V617F 変異量に有意差を認めなかった。



**Fig. 3** *JAK2* V617F 遺伝子変異量と *JAK2* rs10974944 ジェノタイプ ((a)-(c))および *TERT* rs2736100 ジェノタイプ ((d)-(f))の関係

\*  $P < 0.001$

### 5.(5) 遺伝子多型と人口統計および臨床検査結果の関係

今回解析した遺伝子多型と、年齢および性別に有意な関連は認めなかった。また診断時のヘモグロビン値、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数と遺伝子多型に有意な関連は認めなかった。



## 6. 考察

我々は北アメリカやヨーロッパ患者のデータと同様<sup>24)</sup>に、本邦においても *TERT* rs2736100 SNP は MPN 発症と関連することを示した。我々の以前の報告<sup>13)</sup>も含めて様々な報告で、*JAK2*rs10974944 は MPN 発症と関連することが示されてきた。この研究では、以前の我々の報告から症例数を増やし、また新たに *JAK2* V617F 変異陰性で他のドライバー遺伝子 (*CALR*, *MPL*, *JAK2* exon 12) を有する症例毎についても検討を行った。我々の報告は、人種に関わらず MPN の発症には遺伝的素因が重要であることを示している。

*TERT* 遺伝子はテロメラーゼ複合体の逆転写酵素のサブユニットをコードして、テロメア長の維持に必須である<sup>25)</sup>。また、*TERT* rs2736100 の C アリルを有することが、より長いテロメアと関連しているという報告がある<sup>26)</sup>。これらは *TERT* の発現が rs2736100 ジェノタイプと関連している可能性が考えられる。強い影響ではないものの、*TERT*rs2736100 の C アリルが、様々な癌の発症リスクの上昇と関連していることが、これまで示されている<sup>27)-29)</sup>。さらに、*TERT*rs2736100 の C アリルが日本人において血球数の上昇と関連していることが報告されている<sup>30)</sup>。我々の検討では、*JAK2* V617F 陽性 MPN および *CALR* 陽性 MPN において、*TERT* rs2736100 SNP は同程度に有意に発症と関連を認め、特定の強い関連のあるドライバー遺伝子は認めなかった。*TERT*rs2736100 の C アリルが MPN の遺伝的素因であることは、ドライバー遺伝子変異毎による特異性はなく、おそらく血球数に影響を与えることにより、発症のより一般的な役割を担っている可能性がある。

*JAK2* V617F 陰性または *CALR* 変異陽性 MPN における *JAK2* 46/1 ハプロタイプの役割については未だに議論の余地があり、幾つかの報告では *JAK2* 46/1 ハプロタイプは、これらの MPN の発症と関連しないことが示されている<sup>31)32)</sup>。興味深いことに、我々の結果では、*JAK2* V617F 変異陽性 MPN と比較すると影響は少ないものの、有意に *JAK2* 46/1 ハプロタイプは *CALR* 陽性 MPN の発症と関連した。さらに、ルーマニアにおいても同様の報告がなされている<sup>33)</sup>。したがって、*JAK2* 46/1 ハプロタイプと *CALR* 変異陽性 MPN の発症との関連については、未だに結論は出ておらず、今後の更なる検討が必要である。

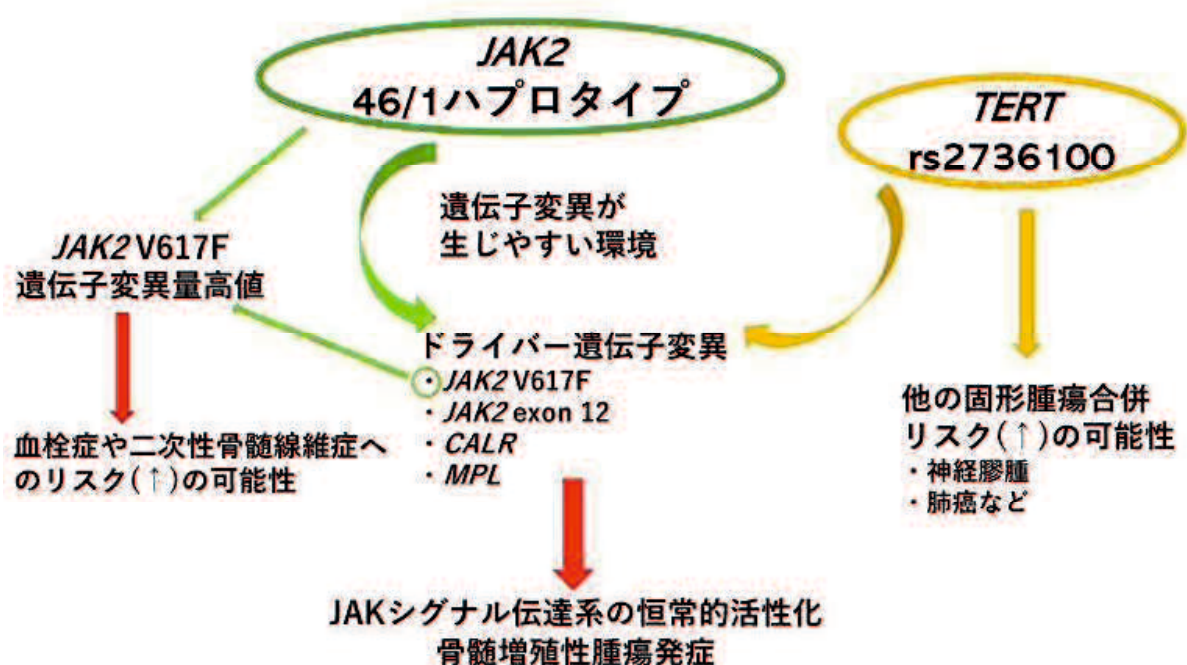
幾つかの報告では、*JAK2* 46/1 ハプロタイプは *JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者において、遺伝子変異量高値と関連していることが示されている<sup>31)34)35)</sup>。デジタル PCR 法は、リアルタイム PCR 法と比較して変動係数が低く、標準曲線を必要とせずに、より高い精度で標的変異を定量化することが出来る<sup>36)</sup>。我々はこのデジタル PCR 法を用いて、*JAK2* 46/1 ハプロタイプが *JAK2* V617F 遺伝子変異量と関連することを確認した。一方で、*TERT* rs2736100 SNP は *JAK2* V617F 変異陽性 MPN 患者において、*JAK2* V617F 遺伝子変異量と関連を認めなかった。

診断時の *JAK2* V617F 遺伝子変異量が、MPN の表現型や重症度、血栓症や二次性骨髄線維症への移行リスクに関連することが報告されている<sup>16)</sup>。*JAK2* 遺伝子変異量の観点から考えると、*JAK2* 46/1 ハプロタイプは *JAK2* V617F 変異陽性 MPN の予後

不良因子になるのかもしれない。しかし Tefferi らは、*JAK2*V617F 変異陽性 PMF 患者において、*JAK2*46/1 ハプロタイプを有さず、*JAK2*V617F 遺伝子変異量低値であることが、生存率の低下と関連していることを報告した<sup>37) 38)</sup>。また、PV や ET においては *JAK2*46/1 ハプロタイプは、予後と明確な関連は示されていない。このように *JAK2*46/1 ハプロタイプと生命予後には不明な点が多く、より長期的な検討により明確にしていく必要がある。*TERT* rs2736100 の C アリルを有した MPN 患者において、特に細胞減少療法を施行した際に、固形腫瘍の合併が多いことが報告されている<sup>39)</sup>。このことは、*TERT*rs2736100 の C アリルの頻度が MPN 患者の生存率に寄与している可能性があり、今後検討が必要である。

結論として、我々は *TERT* rs2736100 SNP と *JAK2* 46/1 ハプロタイプが日本人 MPN 患者において、その発症に有意な相関関係があることを示した。また、*JAK2* 46/1 ハプロタイプは *JAK2* V617F 変異量と関連を認めたが、*TERT* rs2736100 は認められなかったことを示した。

今回明らかになった MPN 発症と遺伝子多型および *JAK2* V617F 変異量の関係は、血液学的特徴、臨床経過や予後の予測等に有用になると考える (Fig. 4)。今後 *JAK2* rs10974944 および *TERT* rs2736100 SNP のジェノタイプ毎の検査所見や臨床的特徴、予後解析をすすめていく予定である。さらに *JAK2*V617F 変異量と臨床的特徴や予後の関係についても解析を行っていく。これらの関係を明確にすることにより、MPN 診断時にこれらの SNP 解析、経時的な *JAK2* V617F 変異量の測定を行うことが、日常診療での予後予測や治療戦略を考えるうえでも重要な指標になっていく可能性がある。



**Fig. 4** *JAK2* 46/1 ハプロタイプおよび *TERT* rs2736100 と骨髄増殖性腫瘍発症、*JAK2* V617F 遺伝子変異量、臨床経過との関係

## 7. 結語

*TERT* および *JAK2* 遺伝子多型が日本人 MPN 発症の遺伝的素因の一つであった。また *JAK2* 遺伝子多型は *JAK2* V617F 変異量と関連を認めたが、*TERT* rs2736100 は認めなかった。

## 8. 謝辞

本論文作成にあたり、検体収集にご協力いただきました先生方に心から感謝いたします。遺伝子解析にご協力いただきました、臨床検査部 末廣寛先生、岡山直子様、中原由起子様、森重彰博様、林さゆり様に心から感謝いたします。日頃より暖かい御指導を賜りました湯尻俊昭先生、谷澤幸生先生に心から感謝致します。また、有益な御意見を頂いた研究室の皆様に感謝致します。

## 9. 参考文献

1. Michiels JJ, Berneman Z, Schroyens W, De Raeve H. Changing concepts of diagnostic criteria of myeloproliferative disorders and the molecular etiology and classification of myeloproliferative neoplasms: from Dameshek 1950 to Vainchenker 2005 and beyond. *Acta Haematol.* 2015;133:36-51.
2. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: *JAK2*, *MPL*, *TET2*, *ASXL1*, *CBL*, *IDH* and *IKZF1*. *Leukemia.* 2010;24:1128-38.
3. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of *JAK2* in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med.* 2005;352:1779-90.
4. 荒木真理人, 森下総司, 小松則夫. 骨髄増殖性腫瘍の遺伝子変異. *臨血.* 2016; 57:2526-34.
5. Nangalia J, Green TR. The evolving genomic landscape of myeloproliferative neoplasms.

- Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2014;2014:287-96.
6. Scott LM. The JAK2 exon 12 mutations: a comprehensive review. *Am J Hematol.* 2011;86:668-76.
  7. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013;369:2379-90.
  8. Araki M, Yang Y, Masubuchi N, Hironaka Y, Takei H, Morishita S, et al. Activation of the thrombopoietin receptor by mutant calreticulin in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2016;127:1307-16.
  9. Waters MJ, Brooks AJ. JAK2 activation by growth hormone and other cytokines. *Biochem J.* 2015;466:1-11.
  10. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127:2391-405.
  11. Kilpivaara O, Mukherjee S, Schram AM, Wadleigh M, Mullally A, Ebert BL, et al. A germline JAK2 SNP is associated with predisposition to the development of JAK2(V617F)-positive myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet.* 2009;41:455-9.
  12. Olcaydu D, Harutyunyan A, Jager R, Berg T, Gisslinger B, Pabinger I, et al. A common JAK2 haplotype confers susceptibility to myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet.* 2009;41:450-4.
  13. Tanaka M, Yujiri T, Ito S, Okayama N, Takahashi T, Shinohara K, et al. JAK2 46/1 haplotype is associated with JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms in Japanese patients. *Int J Hematol.* 2013;97:409-13.
  14. Oddsson A, Kristinsson SY, Helgason H, Gudbjartsson DF, Masson G, Sigurdsson A, et al. The germline sequence variant rs2736100\_C in TERT associates with myeloproliferative neoplasms. *Leukemia.* 2014;28:1371-4.
  15. Tapper W, Jones AV, Kralovics R, Harutyunyan AS, Zoi K, Leung W, et al. Genetic variation at MECOM, TERT, JAK2 and HBS1L-MYB predisposes to myeloproliferative neoplasms. *Nat Commun.* 2015;6:6691.

16. Vannucchi AM, Pieri L, Guglielmelli P. JAK2 allele burden in the myeloproliferative neoplasms: effects on phenotype, prognosis and change with treatment. *Ther Adv Hematol*. 2011;2:21-32.
17. Link-Lenczowska D, Pallisgaard N, Cordua S, Zawada M, Czekalska S, Krochmalczyk D, et al. A comparison of qPCR and ddPCR used for quantification of the JAK2 V617F allele burden in Ph negative MPNs. *Ann Hematol*. 2018;97:2299-308.
18. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood*. 2006;108:3472-6.
19. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369:2391-405.
20. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim JA, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015;143:635-44.
21. Kinz E, Leiherer A, Lang AH, Drexel H, Muendlein A. Accurate quantitation of JAK2 V617F allele burden by array-based digital PCR. *Int J Lab Hematol*. 2015;37:217-24.
22. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:452-8.
23. Matakidou A, Hamel N, Popat S, Henderson K, Kantemiroff T, Harmer C, et al. Risk of non-medullary thyroid cancer influenced by polymorphic variation in the thyroglobulin gene. *Carcinogenesis*. 2004;25:369-73.
24. Trifa AP, Banescu C, Tevet M, Bojan A, Dima D, Urian L, et al. TERT rs2736100 A>C SNP and JAK2 46/1 haplotype significantly contribute to the occurrence of JAK2 V617F and CALR mutated myeloproliferative neoplasms - a multicentric study on 529 patients. *Br J Haematol*. 2016;174:218-26.
25. Bojesen SE. Telomeres and human health. *J Intern Med*. 2013;274:399-413.
26. Bojesen SE, Pooley KA, Johnatty SE, Beesley J, Michailidou K, Tyrer JP, et al. Multiple independent variants at the TERT locus are associated with telomere length and risks of

- breast and ovarian cancer. *Nat Genet.* 2013;45:371-84.
27. McKay JD, Hung RJ, Gaborieau V, Boffetta P, Chabrier A, Byrnes G, et al. Lung cancer susceptibility locus at 5p15.33. *Nat Genet.* 2008;40:1404-6.
  28. Wang Y, Broderick P, Webb E, Wu X, Vijayakrishnan J, Matakidou A, et al. Common 5p15.33 and 6p21.33 variants influence lung cancer risk. *Nat Genet.* 2008;40:1407-9.
  29. Shete S, Hosking FJ, Robertson LB, Dobbins SE, Sanson M, Malmer B, et al. Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for glioma. *Nat Genet.* 2009;41:899-904.
  30. Kamatani Y, Matsuda K, Okada Y, Kubo M, Hosono N, Daigo Y, et al. Genome-wide association study of hematological and biochemical traits in a Japanese population. *Nat Genet.* 2010;42:210-5.
  31. Trifa AP, Cucuianu A, Petrov L, Urian L, Militaru MS, Dima D, et al. The G allele of the JAK2 rs10974944 SNP, part of JAK2 46/1 haplotype, is strongly associated with JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol.* 2010;89:979-83.
  32. Gau JP, Chen CC, Chou YS, Liu CJ, Yu YB, Hsiao LT, et al. No increase of JAK2 46/1 haplotype frequency in essential thrombocythemia with CALR mutations: Functional effect of the haplotype limited to allele with JAK2V617F mutation but not CALR mutation. *Blood Cells Mol Dis.* 2015;55:36-9.
  33. Trifa AP, Banescu C, Bojan AS, Voina CM, Popa S, Visan S, et al. MECOM, HBS1L-MYB, THRB-RARB, JAK2, and TERT polymorphisms defining the genetic predisposition to myeloproliferative neoplasms: A study on 939 patients. *Am J Hematol.* 2018;93:100-6.
  34. Guglielmelli P, Biamonte F, Spolverini A, Pieri L, Isgro A, Antonioli E, et al. Frequency and clinical correlates of JAK2 46/1 (GGCC) haplotype in primary myelofibrosis. *Leukemia.* 2010;24:1533-7.
  35. Pardanani A, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Wolanskyj AP, Hanson CA, et al. The JAK2 46/1 haplotype confers susceptibility to essential thrombocythemia regardless of JAK2V617F mutational status-clinical correlates in a study of 226 consecutive patients. *Leukemia.* 2010;24:110-4.
  36. Waterhouse M, Follo M, Pfeifer D, von Bubnoff N, Duyster J, Bertz H, et al. Sensitive

and accurate quantification of JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative neoplasms by droplet digital PCR. *Ann Hematol.* 2016;95:739-44.

37. Tefferi A, Lasho TL, Huang J, Finke C, Mesa RA, Li CY, et al. Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia.* 2008;22:756-61.
38. Tefferi A, Lasho TL, Mudireddy M, Finke CM, Hanson CA, Ketterling RP, et al. The germline JAK2 GGCC (46/1) haplotype and survival among 414 molecularly-annotated patients with primary myelofibrosis. *Am J Hematol.* 2019;94:299-305.
39. Krahling T, Balassa K, Kiss KP, Bors A, Batai A, Halm G, et al. Co-occurrence of myeloproliferative neoplasms and solid tumors is attributed to a synergism between cytoreductive therapy and the common TERT polymorphism rs2736100. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016;25:98-104.

この学位論文は、Matsuguma M, Yujiri T, Yamamoto K, Kajimura Y, Tokunaga Y, Tanaka M, Tanaka Y, Nakamura Y, Tanizawa Y. *TERT* and *JAK2* polymorphisms define genetic predisposition to myeloproliferative neoplasms in Japanese patients. *Int J Hematol.* 2019;110:690-698.に原著論文として発表したものから、データを引用して作成しました。