

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 7 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790980

研究課題名(和文)急性骨髄性白血病における腫瘍マーカーと予後予測遺伝子セットの探索

研究課題名(英文)Identification of gene sets for prognostic prediction of acute myelogenous leukemia

研究代表者

松本 勇人(Matsumoto, Hayato)

福島県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：70528083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：白血病の予後予測法開発のために、DNAマイクロアレイにより多数の白血病骨髄サンプルを解析した結果、予後に関わる可能性のある68遺伝子を抽出した。さらにこれまでに報告された予後予測のためのスコアリングシステムと対比させてクラスタ解析を行ったところ20遺伝子で急性骨髄性白血病の予後を良好群と不良群に分けられることが判明した。この20遺伝子セットの有用性を検証するため、すでに予後が判明している過去の骨髄サンプルにおける発現を検証コホートとして検討している。さらにDNAマイクロアレイにて骨髄異形成症候群から急性骨髄性白血病への移行に関与する遺伝子も見出し、さらにその詳細につき検討を加えている。

研究成果の概要(英文)：To develop a method for predicting outcomes in acute myelogenous leukemia (AML), we analyzed a number of leukemia bone marrow samples by DNA microarray and identified 68 genes that may be related to patient outcomes. Cluster analysis by comparison with a previously reported scoring system to predict outcomes showed that outcomes in AML could be classified as good or poor on the basis of 20 genes. To examine the usefulness of this 20-gene set, the expression of the genes was examined in bone marrow samples from patients for whom outcomes were already known as a validation cohort. We also used DNA microarray to identify genes involved in the transformation from myelodysplastic syndrome to AML and examined them further in detail.

研究分野：血液病学

キーワード：マイクロアレイ 予後予測

1. 研究開始当初の背景

急性白血病に対する化学療法施行時の5年生存率は20から80%程度とタイプにより大きな差がみられる。一方造血幹細胞移植では、いかなるタイプの白血病であっても概ね60%程度の5年生存率が得られるが、2年以内に40%程度が治療関連死などで死亡することが知られている。よって白血病治療においては治療方針を決定する上で予後を予測することは極めて重要である。客観的に予後を推測することが可能な染色体異常は知られているが急性骨髄性白血病(AML)では約半数の症例は正常核型である。これまでFLT3のITD変異、MLLPTD(partial tandem duplication)変異が予後不良の予測因子となることが報告されている。また遺伝子異常にかかわらずEvi-1、ERG(ETS-related gene)、BAALC(brain and acute leukemia, cytoplasmic)遺伝子は発現の増強が予後不良因子となることが報告されており、これらはAMLの腫瘍マーカー遺伝子としての資格を有するものと思われる。しかしながら、これらの遺伝子による予後予測は未だ臨床応用されておらず、多くの場合、JALSG (Japan adult leukemia study group)のスコアリングのように危険因子のスコア化などに頼っているのが現状であり、多くの症例では初診時に予後を正確に予測することは困難である。本学のNEDOプロジェクト(橋渡し促進技術開発・遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速)において、これまでに我々は白血病症例から100を超える骨髄サンプルを解析してきた。これらサンプルを共通レファレンスRNAを使用した独自開発の合成DNAマイクロアレイシステムでの網羅的な白血病症例の遺伝子発現変化の解析により、急性骨髄性白血病症例において興味深い知見が得られてきた。初発、再発、寛解期を含むAML症例の骨髄または末梢血からmRNAを抽出し、この合成DNAマイクロアレイシステムにかけクラスタ解析を行なった。クラスタ解析は現在本邦で急性骨髄性白血病の予後予測において最も汎用されているJALSGのスコアリングと対比して行なった。遺伝子の抽出とクラスタ解析を繰り返すことで最終的に68遺伝子が抽出された。この68遺伝子によるクラスタ解析によりAMLのサンプル全体が、予後良好群、中間群、不良群の大きく3つに分類されることが判明した。

2. 研究の目的

合成DNAマイクロアレイシステムで得られた白血病の予後にかかわる可能性のある68遺伝子の中から予後予測あるいは再発の早

期予知を可能にする遺伝子(いわゆる腫瘍マーカー)を同定することを目標とする。

3. 研究の方法

DNAマイクロアレイによって得られた68遺伝子の中から予後により発現が異なる遺伝子を選び出す(腫瘍マーカー候補遺伝子)。臨床転帰が判明している過去の骨髄サンプルのうち予後良好の経過をたどったものと予後不良の経過をたどったものをそれぞれ20から30例選定し、候補遺伝子の発現を免疫染色またはin situ hybridization法にて検討する。蛋白、mRNAの発現が予後不良の経過をとった骨髄サンプルで多く発現していたものを腫瘍マーカーとして選定する。次に新規症例でプロスペクティブにこの腫瘍マーカー遺伝子発現を検討する。この際、Evi-1、ERG、BAALC遺伝子など既知の予後を予測することが報告されている遺伝子との発現の違いについてもRT-PCR法やReal-time PCR法などで検討する。

4. 研究成果

白血病治療方針決定のための予後予測法開発のために、DNAマイクロアレイシステムにより多数の白血病骨髄サンプルを解析した結果、予後に関わる可能性のある68遺伝子を抽出した。本研究ではこの中から予後予測可能な遺伝子セットを同定することを目標とした。今回の研究で、これまでに報告された予後予測のためのスコアリングシステムと対比させてクラスタ解析を行ったところ20遺伝子で急性骨髄性白血病の予後を良好群と不良群に分けられることが判明した。良好群が3年全生存割合が78%だったのに対し、不良群は生存期間中央値が350日であった。良好群にはt(8;21)やt(15;17)など予後良好の染色体異常を呈する症例が多く属し、不良群には複雑染色体異常を呈する症例が多く属していた。また不良群における生存例は全例再発生存であった。このようにこの20遺伝子は急性骨髄性白血病の予後を予測する極めて有用な遺伝子セットとなる可能性を秘めており、今回の研究でこの20遺伝子セットの有用性を検証するため、すでに予後が判明している過去の骨髄サンプルにおける発現を検証コホートとして検討を進めている。さらに今回の研究におけるアレイ解析にて骨髄異形成症候群から急性骨髄性白血病への移行に関与する可能性のある遺伝子を見出した。この遺伝子は骨髄異形成症候群では全例で発現が低かったが、急性骨髄性白血病では、その発現レベルはさまざまであり、高発現例では有意に予後不良であることが判明した。また高発現例では末梢血の白血球数や芽球が有意に増加していた。この遺伝子

産物の白血病発症における役割について今後検討を加える予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Kayo Harada-Shirado, Kazuhiko Ikeda, Hayato Matsumoto, Miki Furukawa, Hiroshi Takahashi, Hiroshi Ohkawara, Hideyoshi Noji, Kazuhiro Tasaki, Masafumi Abe, Kazuei Ogawa, Yasuchika Takeishi: A Japanese case of chronic lymphocytic leukemia with t(1;6). *Experimental Hematology & Oncology* 1 (1), 28, 2012
2. Alain M Ngoma, Kazuhiko Ikeda, Yuko Hashimoto, Kazuhiro Mochizuki, Hiroshi Takahashi, Hideki Sano, Hayato Matsumoto, Hideyoshi Noji, Syunnichi Saito, Atsushi Kikuta, Kazuei Ogawa, Mikio Ohtsuka, Masafumi Abe, Kenneth E Nollet, Hitoshi Ohto: Impaired regulatory T cell reconstitution in patients with acute graft-versus-host disease and cytomegalovirus infection after allogeneic bone marrow transplantation. *International Journal of Hematology* 95 (1), 86-94, 2012
3. Kayo Harada-Shirado, Kazuhiko Ikeda, Hayato Matsumoto, Yutaka Shiga, Miki Furukawa, Hiroshi Takahashi, Hiroshi Ohkawara, Hideyoshi Noji, Yuko Hashimoto, Satoshi Waguri, Shinya Watanabe, Kazuei Ogawa, Yasuchika Takeishi : Somatic 15q break after long-term stable disease in acute myeloid leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 14 (2), e69-e72, 2014
4. Natsuo Yamamoto, Hideo Kimura, Hanako Misao, Hayato Matsumoto, Yuji Imafuku, Akemi Watanabe, Hiroko Mori, Akiko Yoshida, Saori Miura, Yoshinobu Abe, Mamoru Toba, Hiromi Suzuki, Kazuei Ogawa, Keiji Kanemitsu: Efficacy of 1.0% chlorhexidine-gluconate ethanol compared with 10% povidone-iodine for long-term central venous catheter care in hematology departments: A prospective study. *American Journal of Infection Control* 42 (5), 574-576, 2014

[学会発表](計 3 件)

1. Kazuhiko Ikeda, Yumiko Mashimo, Alain Ngoma, Hayato Matsumoto, Yuko Hashimoto, Atsushi Kikuta, Kazuei Ogawa, Masafumi Abe, Hitoshi Ohto, Yasuchika Takeishi: Kinetics of regulatory T cell after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 第 74 回 日本血液学会学術集会 (2012.10.19-10.21, 京都)
2. Kayo Harada-Shirado, Kazuhiko Ikeda, Yuko Hashimoto, Satoshi Kawana, Hayato Matsumoto, Hiroshi Ohkawara, Hideyoshi Noji, Masafumi Abe, Kazuei Ogawa, Yasuchika Takeishi: Breast tumor as a presentation of extranodal T-cell lymphoblastic lymphoma-clinical and pathological analysis. The 4th JSH International Symposium 2013 in Ehime (2013.5.24-5.25, Matsuyama, Japan)
3. Kazuhiko Ikeda, Kazuei Ogawa, Kayo Harada-Shirado, Yutaka Shiga, Miki Furukawa, Hiroshi Takahashi, Hayato Matsumoto, Hiroshi Ohkawara, Hideyoshi Noji, Yasuchika Takeishi: Expression of NECDIN in acute myeloid leukemia (AML). 第 75 回 日本血液学会学術集会 (2013.10.11-10.13, 札幌)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本勇人 (MATSUMOTO Hayato)
福島県立医科大学・医学部・研究員
研究者番号：70528083

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：