

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成26年度採択分  
平成29年3月15日現在

骨髄異形成症候群(MDS)の分子基盤の解明

Molecular pathogenesis in myelodysplastic syndromes (MDS).

課題番号：26221308

小川 誠司 (Ogawa Seishi)

京都大学・医学研究科・教授



研究の概要

骨髄異形成症候群(MDS)とその関連疾患は、血球形態の異常を伴った骨髄不全と急性骨髄性白血病への移行を特徴とし、高齢者に好発する慢性骨髄性腫瘍である。本研究では、MDSの病因・病態の本質を明らかとするため、当研究室にて長年培われてきたゲノム解析をMDSへ応用し、クローン進化の過程やスプライス異常を検討し、MDSの克服に資することを目的とする。

研究分野：ゲノム医学、血液内科学、腫瘍学

キーワード：骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、クローン進化、スプライス異常

1. 研究開始当初の背景

骨髄異形成症候群(MDS)とその関連疾患は、血球形態の異常を伴った骨髄不全と急性骨髄性白血病(AML)への移行を特徴とする、高齢者に好発する慢性骨髄性腫瘍である。その本質的な病因については、本症を特徴づける変異が知られておらず、これまで不明であった。申請者らは、全エクソンシーケンスを用いて、RNA スプライシング因子の系統的な変異が本症に特異的かつ高頻度(45-85%)に認められることを明らかにし、本症の病態の解明に大きな突破口を開いた(Yoshida et al., *Nature*. 2011)。

2. 研究の目的

本研究では、同研究成果およびこれに続く近年の申請者らの研究成果を踏まえ、RNA スプライシング因子の変異と、それらと共存する遺伝子変異が、どのようにしてMDSの発症を誘導し、白血病への進展が生ずるのかについて、世界トップレベルのゲノム解析技術とマウスモデルを駆使した遺伝学的・機能的解析を通じて明らかにし、MDSの克服に資することを目的とする。

3. 研究の方法

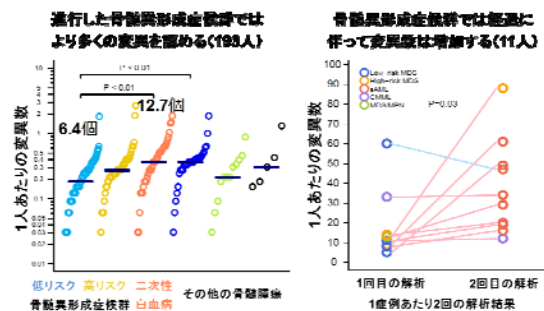
MDSを含む種々の骨髄系腫瘍(AML、骨髄増殖性疾患など)およびその前駆病変(再生不良性貧血等)に関して、臨床経過を通じて経時的に採取された検体を用い、次世代大量並列シーケンスによるMDSの変異の全体像とクローン進化を詳細に解明する。続いて、変異の

機能的・生物学的意義の解明に関しては、遺伝子変異を導入したマウスモデルの検討、および、トランスクリプトーム(RNA)シーケンスによりスプライス異常を同定することにより明らかにする。

4. これまでの成果

MDS およびその関連疾患において世界最大コホート(n=204)を全エクソームシーケンスにより解析し報告した(Makishima et al, *Nat Genet*. 2017)。全遺伝子から抽出したアミノ酸配列の変化するいわゆる nonsynonymous 変異の数は、低リスク MDS 期(一症例あたり 6.4 個)に比較し二次性 AML 期(12.7 個)において、有意に増加していた。この傾向は、時系列で複数回サンプリングした症例(n=11)においても有意な所見として再現された(図1)。以上の解析から、

一人あたりの変異の数(図1)

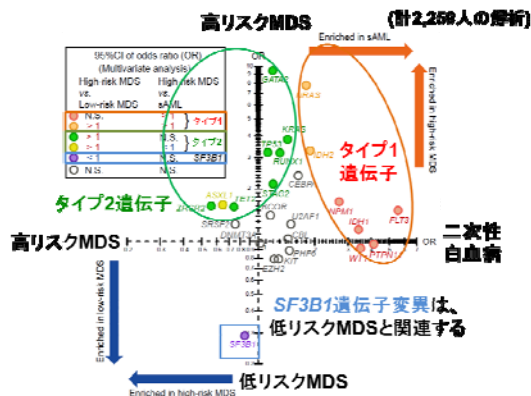


MDSにおいて、およそ1%以上の

頻度で変異する遺伝子は網羅的に検索されたことになり、MDS における新規ドライバー遺伝子変異として報告した(*PHF6*, *GFI1*, *DDX41*, *BRCC3*, *GNB1*) (Mori et al, *Leukemia*. 2016, Hönes et al, *Leukemia*. 2016, Polprasert et al, *Cancer Cell*. 2015, Huang et al, *Haematologica*. 2015, Yoda et al, *Nat Med*. 2015)。このうち、有意に高頻度に変異している遺伝子を統計的に算出し、それらを含む標的遺伝子(61 遺伝子)についてシーケンスを高深度で行った。時系列でサンプリングし変異クローンの正確な評価を行うと、臨床経過中にサイズが増加する変異クローンおよび、二次性の白血病へ進展する際に新たに獲得される変異が明確に検出された。

以上から、MDS から白血病への進展時には遺伝子変異が蓄積し、変異クローンは増大する傾向にあることが明らかとなった。そこで、病期進行に伴い具体的にどの遺伝子に異常が獲得されるのかについて検討するため、各病期における遺伝子変異の頻度を詳細に比較した。標的遺伝子シーケンスの解析としては、これまでの世界最大コホートである 2,250 例を検討した。その結果、高リスク MDS 例から二次性 AML に進展する際に高頻度に獲得される **タイプ 1 異常** (*FLT3*, *PTPN11*, *WT1*, *IDH1*, *NPM1*, *IDH2*, *NRAS* 変異) (図 2 の X 軸)と、低リスク MDS から高リスク MDS へ進行する際に獲得される **タイプ 2 異常** (*TP53*, *GATA2*, *KRAS*, *RUNX1*, *STAG2*, *ASXL1*, *ZRSR2*, *TET2* 変異) (図 2 の Y 軸)を明らかにした。同時に、低リスク MDS と関連する *SF3B1* 変異も抽出された。

**タイプ1遺伝子は、より二次性白血病と関連し**  
**タイプ2遺伝子は、より高リスクMDSと関連する(図2)**

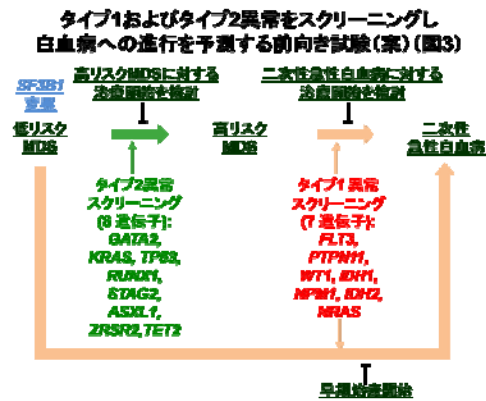


次に、本研究において、新規に定義されたタイプ別変異について、臨床的意義を検討した。タイプ 1 の異常陽性の症例は、陰性の場合よりも白血病になりやすく早期に死亡する。タイプ 2 の異常陽性の症例は、タイプ 1 が陽性の場合よりもインパクトは弱いものの他の異常よりも白血病になりやすい。*SF3B1* 遺伝子の変異を持つ症例は、タイプ 1 およびタイプ 2 の異常を持たなければ、

まれにしか白血病にならず、最も予後が良好である。ことが明らかとなった。以上の結果は今年度 Nature Genetics 誌へ掲載され、一定の成果が得られた。

### 5. 今後の計画

臨床応用を考慮する上で、白血病への進行を予測する前向き試験として以下を提案する。下図 3 に示すように、高リスク MDS 期にはタイプ 1 異常をスクリーニングし白血病進展を予測し、低リスク MDS 期にはタイプ 1・2 および *SF3B1* 変異を検索し、急激に白血病進展する群、徐々に白血病進展する群、および低リスク MDS にとどまることが予測される群に分類する。



### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Makishima H, et al., Ogawa S, et al. Dynamics of clonal evolution in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2017; 49(2): 204-212.
2. Kataoka K, et al., Ogawa S. Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers. *Nature*. 2016; 534(7607): 402-406.
3. Yoshizato T, et al., Makishima H, et al., Ogawa S. Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 2015; 373(1): 35-47.
4. Polprasert C, et al., Makishima H, et al., Ogawa S, et al. Inherited and Somatic Defects in *DDX41* in Myeloid Neoplasms. *Cancer Cell*. 2015;27(5):658-670.
5. Kataoka K, et al., Ogawa S. Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nat Genet*. 2015; 47(11): 1304-1315.

【研究室ホームページ】

[http://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral\\_course/r-006/](http://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral_course/r-006/)