

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：83904

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16103

研究課題名(和文)成人急性リンパ性白血病における年齢依存的な染色体転座とその発症機序に関する研究

研究課題名(英文) Study of pathogenic mechanism of age-dependent chromosome translocation in adult acute lymphoblastic leukemia

研究代表者

安田 貴彦 (Yasuda, Takahiko)

独立行政法人国立病院機構(名古屋医療センター臨床研究センター)・その他部局等・分子診断研究室長

研究者番号：20723977

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):急性リンパ性白血病(ALL)は融合遺伝子が腫瘍の発症に大きな役割を担う。また、融合遺伝子の種類やその頻度は年齢依存的に変動することが知られ、例えば小児期ではETV6-RUNX1が、成人ではBCR-ABL1が好発する。我々は、JALSG(日本成人白血病共同研究グループ)で実施されたALL202-U研究とALL202-O研究の両コホートのサンプルを用いて、RNAシーケンスを行い、網羅的に融合遺伝子の検出を行った。その結果、日本人成人における融合遺伝子の種類ならびにその頻度の全貌を明らかにし、さらに発症年齢と融合遺伝子の関連性も明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

融合遺伝子とその年齢の関連性を解析したところ、DUX4 融合遺伝子とMEF2D 融合遺伝子はAYA世代(15-39歳)で好発する一方、Ph-like ALL(キナーゼ関連融合遺伝子)とZNF384融合遺伝子はAYAと成人(40-64歳)の両世代に均等に発症することが明らかとなった。これらの融合遺伝子がなぜ年齢依存性を示すか、ゲノム上の融合点の特徴から解明を目指した。DUX4融合遺伝子の融合点付近には、RAGが認識するコンセンサス配列が確認されたが、それ以外の他の融合遺伝子には特徴的な配列は確認されなかった。年齢依存的に融合遺伝子が発症するメカニズムの解明に向けて、更なるアプローチが必要である。

研究成果の概要(英文): In Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL), fusion genes play a major role in tumor development. It is known that the type of fusion gene and its frequency fluctuate in an age-dependent manner. For example, ETV6-RUNX1 frequently occurs in childhood and BCR-ABL1 frequently occurs in adults. We performed RNA sequencing using samples from both the ALL202-U and ALL202-O cohorts conducted by JALSG (Japan Adult Leukemia study Group) to detect fusion genes comprehensively. As a result, we clarified the type and frequency of fusion genes in Japanese adults, and also revealed the relationship between onset age and fusion genes.

研究分野: 血液腫瘍学

キーワード: 融合遺伝子 年齢依存的 急性リンパ性白血病 AYA RNA-seq

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ALLは小児から高齢者まで幅広く発症する疾患である。しかし、小児においては約90%の長期生存が見込まれるが、成人では長期生存は30%程度にとどまるなど、ALLの治療成績は年齢間の格差が大きい。その原因の一つとして小児(15歳未満)に比べて、思春期・若年成人(Adolescents and Young Adults: AYA, 15-39歳)成人(40歳以上)ALLの生物学的な特性に不明な点が多いことがあげられる。

申請者は、分子遺伝学的基盤に特に不明な点が多かったAYA世代のフィラデルフィア陰性ALL(15-24歳)を対象とし、生物学的な特性を最も顕著に反映する融合遺伝子を同定するため、RNAシーケンスを行った。その結果、B細胞性ALLの約70%の症例において疾患と密接に関係する融合遺伝子を同定し、中でもDUX4(18.5%)、ZNF384(16.7%)、MEF2D(9.2%)の3つの転写因子が関与する融合遺伝子が高頻度に存在することを新規に発見した(Yasuda T. et al, Nature Genetics, 2016)。本研究の結果は、AYA世代ALLは独自の融合遺伝子プロファイルをもち、小児あるいは成人とは異なる臨床的なカテゴリーに分けられる可能性があることを示した。

小児期では、ETV6-RUNX1、MLL関連転座が特徴的であることが知られており、申請者が新たに得た知見を合わせると、ALLは年代ごとに好発する融合遺伝子の種類や頻度が大きく変動する疾患と言える。

2. 研究の目的

腫瘍のゲノム異常は、様々な外的要因(環境)内的要因(遺伝学的素因)によって誘発されるが、一般的に加齢に伴いゲノム異常は蓄積され、腫瘍発症の頻度は増加すると考えられている。申請者が同定したAYA世代に好発する融合遺伝子の存在は、その観点において「意外な」点であり、融合遺伝子の成立機序にAYA世代独自の別の因子が強く関与していることが示唆される。また、一方で、小児期や成人期に好発する融合遺伝子もあることから、染色体転座形成における複数の機序の存在が示唆される。本研究の「学術的問い」はその因子を明らかにすることである。

3. 研究の方法

日本人ALL患者における融合遺伝子の全貌解明と年齢との関連性の解明

本研究では、JALSG(日本成人白血病共同研究グループ)で行われたALL202-U研究(n=54)、ALL202-O研究(n=148)のB-ALLサンプルを用いて、RNA-seqによる網羅的融合遺伝子解析を実施する。得られた融合遺伝子の結果と年齢の情報を統合解析し、各世代(AYA、成人)に好発する融合遺伝子を明らかにする。

各融合遺伝子のゲノム上のbreak pointの同定

頻度の高い融合遺伝子(DUX4, ZNF384, MEF2D, E2A-PBX1, BCR-ABL1など)に関しては、ゲノム上のbreak pointの同定を行う。症例数が多いことと、イントロン領域のPCR増幅が難しいことを勘案して、本研究では、break point同定に必要なイントロン領域をキャプチャプローブで濃縮する。バイオインフォマティクス解析により、得られたリードの中から融合する両遺伝子の配列を含むリードを抽出し、ゲノム上のbreak pointを同定する。

break point周辺配列から類推される転座機序の同定

B-ALLはB細胞が起源であると考えられ、一部の染色体転座はRAG1/2あるいはAIDのoff targetにより生じることが知られている。そこで、Break pointの周辺配列の中に、RAG1/2

あるいはAIDのターゲットモチーフがないかどうかを検索し、Physiologicalな機序で転座が起こっているかを確認する。ターゲットモチーフが見つからない場合、Break pointがランダムに起こっていることが確認されれば、放射線やフリーラジカルなどのPathologicalな機序で転座が生じている可能性がある。これらの情報を統合的に解析することにより、Pathologicalな機序とPhysiologicalな機序の区別を行い、転座機序のメカニズムを類推する。同じ染色体転座に対し、複数のサンプルで解析を行うことにより、類推される転座機序の解析精度を高める。

転座機序と年齢との関連の探索

転座機序が明らかになった融合遺伝子に対しては、時間的な観点からみた融合遺伝子のパターンと転座機序を比較し、その関連性を明らかにする。Pathologicalな機序は成人型融合遺伝子と関連性を有し（電離放射線、フリーラジカルの影響は年齢に相関）、一方Physiologicalな機序は、AYA型融合遺伝子との関連性が強い（小児・AYA期にBリンパ球の産生が最も盛んである）と予想している。

4. 研究成果

申請者は、AYA・成人世代ALL（15-64歳）が有する融合遺伝子を年齢横断的に解析した。年齢と各融合遺伝子の発症頻度の関連性を解析した結果、成人ALLに見られる融合遺伝子は二つのパターンに大きく分けられることが確認された。一つは、DUX4融合遺伝子、MEF2D融合遺伝子など15-39歳のAYA世代に発症頻度のピークをもつ融合遺伝子のグループ（AYA型融合遺伝子）であり、もう一つはZNF384融合遺伝子、Ph-like ALL（JAK2, ABL1融合遺伝子などのキナーゼ関連融合遺伝子）など明らかなピークを持たずAYA・成人（40-64歳）に均等に生じる融合遺伝子のタイプ（AYA・成人型融合遺伝子）である。

DUX4融合遺伝子、MEF2D融合遺伝子、ZNF384融合遺伝子に関するゲノム上のbreakpointを同定した。DUX4融合遺伝子の融合点付近には、RAGが認識するコンセンサス配列が確認され、Physiologicalな機序で生じていることが明らかとなった。一方、MEF2D融合遺伝子、ZNF384融合遺伝子においては、特徴的な配列は確認されず、現時点での染色体転座の発症機序を明らかにすることができていない。また、その他の融合遺伝子に関しては、breakpointを明らかにできた症例が十分に確保できていない。年齢依存的に融合遺伝子が発症するメカニズム解明に向けて、更なる症例数の蓄積、および他の解析アプローチが必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Li JF, Dai YT, Lilljebjorn H, Shen SH, Cui BW, Bai L, Liu YF, Qian MX, Kubota Y, Kiyoi H, Matsumura I, Miyazaki Y, Olsson L, Tan AM, Ariffin H, Chen J, Takita J, Yasuda T, Mano H, Johansson B, Yang JJ, Yeoh AE, Hayakawa F, Chen Z, Pui CH, Fioretos T, Chen SJ, Huang JY.	4. 巻 115
2. 論文標題 Transcriptional landscape of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia based on an international study of 1,223 cases.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A.	6. 最初と最後の頁 E11711-E11720
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1814397115.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hirano D, Hayakawa F, Yasuda T, Tange N, Yamamoto H, Kojima Y, Morishita T, Imoto N, Tsuzuki S, Mano H, Naoe T, Kiyoi H.	4. 巻 38
2. 論文標題 Chromosomal translocation-mediated evasion from miRNA induces strong MEF2D fusion protein expression, causing inhibition of PAX5 transcriptional activity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncogene.	6. 最初と最後の頁 2263-2274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-018-0573-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Y, Kawazu M, Yasuda T, Tamura M, Hayakawa F, Kojima S, Ueno T, Kiyoi H, Naoe T, Mano H.	4. 巻 103
2. 論文標題 Transcriptional activities of DUX4 fusions in B-cell acute lymphoblastic leukemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Haematologica.	6. 最初と最後の頁 e522-e526
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3324/haematol.2017.183152.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takahiko Yasuda, Dai Nishijima, Shinya Kojima, Masahito Kawazu, Toshihide Ueno, Shinobu Tsuzuki, Hitoshi Kiyoi, Itaru Matsumura, Yasushi Miyazaki, Keizo Horibe, Hiroyuki Mano, Tomoki Naoe, Masashi Sanada, Fumihiko Hayakawa
2. 発表標題 Genomic and Clinical Characterization of Adult Ph-Negative B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia
3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting & Exposition（国際学会）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 安田 貴彦, 西島 大, 小島 進也, 河津 正人, 上野 敏秀, 都築 忍, 清井 仁, 松村 到, 宮崎 泰司, 堀部 敬三, 間野 博行, 直江 知樹, 眞田 昌, 早川 文彦
2. 発表標題 成人B細胞性急性リンパ性白血病のゲノム学的・臨床的な特徴
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Hideyuki Yamamoto, Fumihiko Hayakawa, Takahiko Yasuda, Yuka Minamikawa, Naoyuki Tange, Daiki Hirano, Yuki Kojima, Takanobu Morishita, Shinobu Tsuzuki, Hiroyuki Mano, Tomoki Naoe and Hitoshi Kiyoi
2. 発表標題 ZNF384-Fusion Proteins Have High Affinity to EP300, Which Increases Their Transcriptional Activities.
3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting & Exposition (国際学会)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 山本 秀行, 早川 文彦, 安田 貴彦, 南川 友香, 丹下 直幸, 平野 大希, 小島 勇貴, 森下 喬允, 都築 忍, 間野 博行, 直江 知樹, 清井 仁
2. 発表標題 ZNF384融合遺伝子による急性リンパ性白血病発症機構の解明
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 田中 庸介, 河津 正人, 安田 貴彦, 早川 文彦, 清井 仁, 直江 知樹, 間野 博行
2. 発表標題 DUX4-IGH融合遺伝子陽性B細胞急性リンパ性白血病における転写活性解析
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----