

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16128

研究課題名（和文）本邦の小児～若年成人骨髄異形成症候群における先天性素因と臨床像の解明

研究課題名（英文）Analysis of germline predisposition and clinical features of childhood and AYA myelodysplastic syndrome

研究代表者

平林 真介（Hirabayashi, Shinsuke）

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：50769635

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）：本研究は、本邦の小児から若年成人の骨髄異形成症候群（MDS）において疾患の成り立ちに重要である先天性素因の同定と臨床像の解明を目的とする。乳幼児の遺伝性骨髄不全症候群の鑑別疾患としてPearson症候群がある。希少疾患であり、骨髄不全は自然回復することが知られていたが、MDSに進行する例を経験し、monosomy 7やRUNX1変異が蓄積することを明らかにした。GATA2異常はMDSの先天性素因として重要であるが、意義が不明の同義置換変異が、RNAの機能低下に影響を与え病的意義があることを明らかにした。国際共同研究として、小児MDSにおけるGATA2、SAMD9/9L異常について協力した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般集団、希少症候群それぞれの造血器腫瘍の発生機序を解明することは、それぞれの知見を用いて、相互に新たな解析、治療選択への応用が可能となる。本研究の成果により、Pearson症候群やGATA2異常症において、先天性原因遺伝子異常を背景に、既知の造血器腫瘍特異的な遺伝子異常が加わることが確認された。今後、がん素因に配慮しつつ、それぞれの腫瘍に合わせた治療選択が可能となる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to identify the germline predisposition and to elucidate the clinical features of myelodysplastic syndrome (MDS) in children and young adults in Japan. Pearson syndrome is important as a differential disease of inherited bone marrow failure syndrome in infants. It is a rare disease, and it was known that cytopenia spontaneously recovers. Although GATA2 abnormalities are important as a germline predisposition to MDS, synonymous substitution mutations that were classified as no significance have been shown to affect RNA dysfunction and have pathogenic significance. As an international research, we cooperated analysis on GATA2 and SAMD9/9L abnormalities in pediatric MDS.

研究分野：小児血液・腫瘍学

キーワード：先天性素因 骨髄異形成症候群

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小児がん領域を中心に生殖細胞系列の遺伝子異常の存在が、がん化の出発点であることが注目されている。Pearson 症候群からの発症した造血器腫瘍を経験した。また、Germline GATA2 変異では、GATA2 遺伝子領域全体にわたる変異の他に、GATA2 全体の欠失、イントロン部分に位置するエンハンサー部位の変異が同定されるなど多岐にわたる。遺伝子変異の部位により、有意にリンパ浮腫を合併することが多い変異部位や、骨髄異形成症候群の発症に至る率が高い変異部位などが報告されている。このように重症度や臨床的表現型が異なることなどが示唆されており、一定の見解を得ていない。骨髄異形成症候群を発症する年代は小児期のみならず、10 歳代から 20 歳代を中心としてみられるのが特徴である。

### 2. 研究の目的

網羅的遺伝子解析により、がん細胞における遺伝子異常の蓄積と発がんの機序が解明されてきた。小児領域においては遺伝性症候群を背景にもつ個体からのがん化の機序が課題である。しかし、多数例を検討できない希少症候群において、造血器腫瘍の解明はまだ途上である。確立した研究基盤を用いて Pearson 症候群、GATA2 症候群などの希少症候群に発生した造血器腫瘍の遺伝子解析を行い、本邦の小児から若年成人の骨髄異形成症候群において疾患の成り立ちに重要である先天性素因の同定と臨床像の解明を目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 対象

聖路加国際病院小児科(令和元年から北海道大学小児科へ異動)と研究協力施設の遺伝性症候群による血液腫瘍、家族性血液腫瘍症例のうち、本研究の同意が得られた症例を対象とする。聖路加国際大学の研究倫理審査委員会(令和元年から異動した北海道大学研究監理部)から本研究は承認が得られている。

#### (2) ターゲットシーケンスと MLPA 法

聖路加国際大学共同研究ラボラトリー(令和元年から北海道大学小児科)において、ABI 3500 Genetic analyzer を用いて希少症候群の原因遺伝子変異・欠失の検索を行い、その同定を試みた。

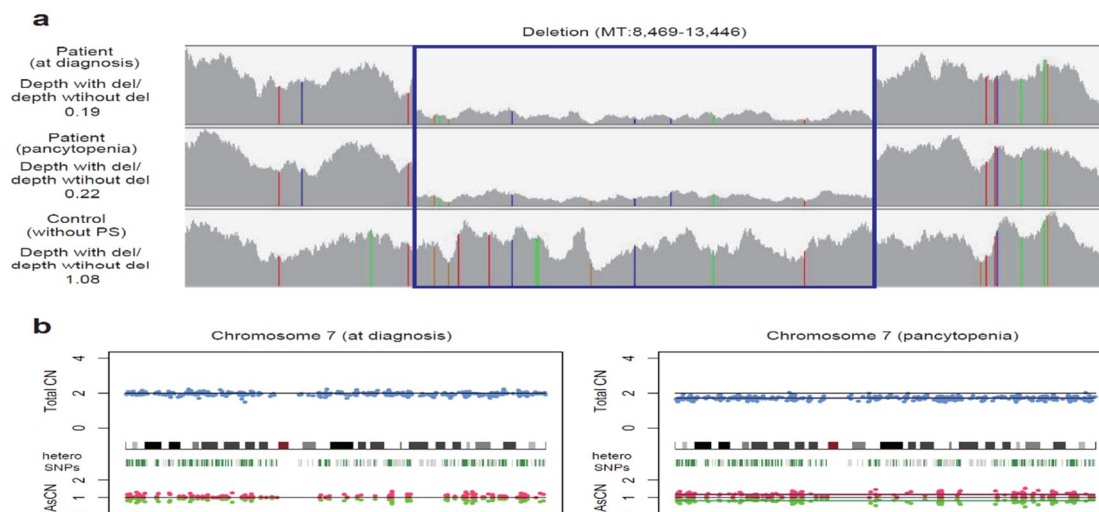
#### (3) 網羅的遺伝子解析

研究協力施設にて腫瘍検体(somatic)と正常検体(germline)における検索を行い、白血病細胞のクローン変化の解析を行うことでがん化の機序を解明する。

### 4. 研究成果

#### (1) Pearson 症候群を背景に monosomy7 を伴う病状進展の機序

Pearson 症候群は鉄芽球性貧血、骨髄前駆細胞の空胞形成、腺外分泌不全を伴うミトコンドリア病の一亜型である。貧血は自然軽快することが多く、造血細胞移植を要する例は稀であるが、感染に伴う乳酸アシドーシスの増悪などにより平均寿命は約 4 歳と長期予後は不良である。乳幼児の遺伝性骨髄不全症候群の鑑別疾患として重要である。希少な疾患であり、骨髄不全は自然回復することが知られていたが、骨髄異形成症候群に進行する例を経験し、その病態を解析し、monosomy 7 や RUNX1 変異が蓄積することを明らかにした(Pediatr Blood Cancer. 2021 Feb;68(2):e28799.)。



Chr	Start	End	Ref	Alt	Gene	Exonic function	Amino acid change	VAF_tumor	VAF_normal
21	36259192	36259192	G	A	RUNX1	Missense SNV	NM_001754:exon4:c.C299T;p.S100F	0.086	0
1	151774970	151774970	G	A	LINGO4	Missense SNV	NM_001004432:exon2:c.C211T;p.R71C	0.032	0

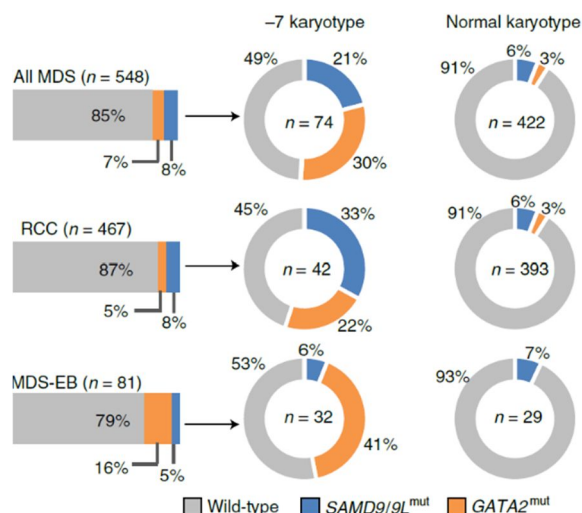
Abbreviation: VAF, variant allele frequency.

Pearson 症候群の遺伝子解析では原因となるミトコンドリア DNA の欠失を複数の骨髄検体、口腔粘膜のいずれでも検出することが可能であった。骨髄検体で芽球は 2%のみである一方、FISH 解析では monosomy 7 を 58%で認めていた。Pearson 症候群において clonal evolution が生じた可能性と、造血ストレスによる回避機構としての clonal 造血が生じた可能性を想定したが、網羅的解析では進行期の骨髄検体の一部に RUNX1 の体細胞変異が確認されている。

## (2) 小児 MDS における先天性素因の同定と臨床像の解明

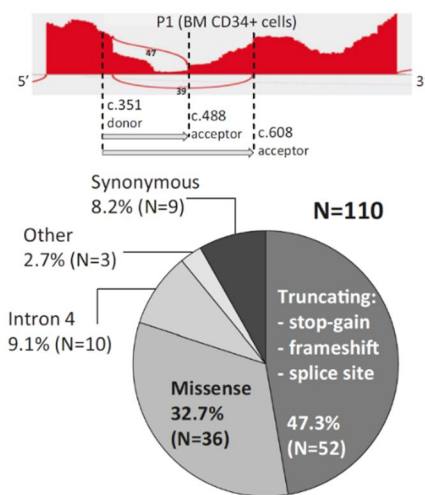
ヨーロッパ小児 MDS 研究グループの研究に参画し、小児 MDS における先天性素因の同定と臨床像の解明に協力した。小児 MDS の 7%が GATA2 異常、8%が SAMD9/9L 異常を有していた。Monosomy7 に注目すると 30%が GATA2 異常、21%が SAMD9/9L 異常で、両者で半数を占める。小児不応性血球減少症 (refractory cytopenia of childhood: RCC) に注目すると SAMD9/9L 異常の比率が高い一方、Advanced MDS では GATA2 異常が優勢になる。また年齢に注目すると AYA 世代はやはり GATA2 異常の頻度が多い (Nat Med. 2021Oct;27(10):1806-1817.)。

上記の結果から近年の先天性素因を有する骨髄異形成症候群の国際分類が新たに提唱されている<sup>1)</sup>。



## (3) GATA2 異常症におけるサイレント変異における病的意義

同じくヨーロッパ小児 MDS 研究グループの研究に参画し、GATA2 異常において蛋白変化を伴わないサイレント変異における病的意義の解明に協力した。これまで正常バリアントと考えられていたサイレント変異から、スプライシングの変化によって RNA レベルが低下していることが確認され、この Synonymous な異常が 8%を占めた。GATA2 異常は骨髄異形成症候群の先天性素因として重要であるが、意義が不明であった同義置換変異が、RNA の機能低下に影響を与え病的意義があることを明らかにした (Leukemia. 2020 Oct;34(10):2673-2687.)。適切な診断と治療介入に寄与するものと考えられ、また他の疾患でも同様の病態に注意が必要である。



## (4) その他

網羅的遺伝子解析が実装されることを前提に実臨床での課題を検討する研究や、その結果を用いて分子標的薬を導入する症例などの検討も同時期に行うことができた。また、広く学会や研究会などで先天性素因を有する小児から若年成人の骨髄異形成症候群について啓蒙活動を行った。

## (5) 今後の課題

小児から AYA 世代の MDS/AML において先天性素因の同定と臨床データを合わせた統合解析のため、遺伝子解析系の構築とデータベースの作成を開始した。既存の検体を用いて、一部国際共同研究を進め成果が現れている。新型コロナウイルス感染の収束とともにさらに共同研究を推進し、前向きに検体を集積したい。特発性造血障害研究班や小児 MDS 治療研究会での活動を通じて小児領域、成人領域をまたがる形で、小児科、血液内科との共同研究を開始している。臨床データ収集のための多施設共同の研究計画書の申請、承認を進めている。

## 文献

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, et al. International Consensus Classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. Blood. 2022;140(11):1200-1228.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sahoo SS, Hirabayashi S, Wlodarski MW.	4. 巻 27
2. 論文標題 Clinical evolution, genetic landscape and trajectories of clonal hematopoiesis in SAMD9/SAMD9L syndromes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Med .	6. 最初と最後の頁 1806-1817
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/1038/s41591-021-01511-6.	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 Kozyra EJ, Hirabayashi S, Wlodarski MW	4. 巻 34
2. 論文標題 Synonymous GATA2 mutations result in selective loss of mutated RNA and are common in patients with GATA2 deficiency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 2673 ~ 2687
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-020-0899-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishimura Akira, Hirabayashi Shinsuke, Hasegawa Daisuke, Yoshida Kenichi, Shiraishi Yuichi, Ashiarai Miho, Hosoya Yosuke, Fujiwara Tohru, Harigae Hideo, Miyano Satoru, Ogawa Seishi, Manabe Atsushi	4. 巻 68
2. 論文標題 Acquisition of monosomy 7 and a RUNX1 mutation in Pearson syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Blood & Cancer	6. 最初と最後の頁 e28799
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/pbc.28799	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 平林真介、真部淳	4. 巻 78
2. 論文標題 遺伝性造血器腫瘍	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 146-151
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 平林真介、真部淳	4. 巻 1
2. 論文標題 小児がんと家族性腫瘍	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 家族性腫瘍	6. 最初と最後の頁 28-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18976/jsft.19.1_28	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 平林 真介、鈴木 美慧、真部 淳	4. 巻 59
2. 論文標題 TP53変異と造血器腫瘍	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 2468 ~ 2474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.59.2468	査読の有無 無
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4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 平林真介
2. 発表標題 遺伝性骨髄不全症候群オーバービュー
3. 学会等名 小児血液・がん学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平林真介
2. 発表標題 小児の骨髄異形成症候群
3. 学会等名 小児血液・がん学会北海道セミナー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平林真介 他
2. 発表標題 小兒造血器腫瘍におけるクリニカルシーケンスの実行可能性に関する研究
3. 学会等名 第81回日本血液学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平林 真介
2. 発表標題 MDS-predisposing syndromes; オーバービューと最近の話題
3. 学会等名 小兒MDS治療研究会
4. 発表年 2018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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関