

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 1 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461426

研究課題名(和文)原爆被爆者にみられる骨髄異形成症候群の臨床的特徴と遺伝子変化の解明

研究課題名(英文)Clinical features and genetic alterations of MDS among atomic bomb survivors.

研究代表者

宮崎 泰司 (MIYAZAKI, Yasushi)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授

研究者番号：40304943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：被爆者MDSの臨床的特徴とゲノム異常を解析した。近距離被爆者MDSでは遠距離例のMDSと比較して染色体異常の頻度が高く、複雑核型のように予後不良の核型例が多かった。しかし、被爆距離によって生存期間、白血病転化割合、無白血病生存期間に有意な差は見られず、MDSにおける染色体異常の持つ予後への影響が被爆者MDSと自然発症MDSで異なる可能性も考えられた。MDSから急性リンパ性白血病へ転化した稀な例のゲノム解析では、白血病転化時に新たなゲノム異常が獲得されていた。

研究成果の概要(英文)：We studied clinical features and genome alterations of MDS among atomic bomb survivors. We found that the frequency of abnormal karyotype was significantly higher in MDS among survivors exposed at closer distance from hypocenter, especially karyotypes related to poor prognosis, such as complex karyotypes. However, there was no significant difference in overall survival, cumulative incidence of leukemia, or leukemia-free survival by the distance from hypocenter. These findings suggested that the impact of cytogenetic abnormality could be different between de novo MDS and MDS among survivors. We analyzed genome alteration in a rare case of MDS that transformed into acute lymphoblastic leukemia, in which new genome alterations were obtained at transformation.

研究分野：血液内科学

キーワード：骨髄異形成症候群 原爆被ばく 放射線 染色体異常 ゲノム異常

1. 研究開始当初の背景

広島および長崎の原爆被爆者疫学調査で原爆放射線被ばくによって、白血病(急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病)が被爆後数年から15年程度の間にも多発したことが知られている(Preston DL, et al. Radiat Res. 1994;137:S68-97.)。それ以降、発症リスクは低下しているものの最近の調査では1990年代になっても被爆者の白血病リスクは有意に高い(Hsu WL, et al. Radiat Res. 2013;179:361-82.)。白血病以外の造血器腫瘍では、骨髄異形成症候群(MDS)発症頻度の有意な増加(Iwanaga M, et al. J Clin Oncol 2011;29:428-34.)が明らかとなった。しかし、これらの造血器腫瘍が放射線被ばくによってどのような発生機転をとったのか、発症後に自然発症例と異なる経過をとるのか不明である。

被爆者MDSの臨床的特徴は、その発症機序と大きく関連すると予想される。抗がん化学療法後に治療関連MDSが増加し、自然発症MDSと異なる経過をとることが示されている(Bhatia R, et al. Curr Opin Hematol 2011;18:77-82.)。しかし、被爆者MDSがどのような経過をとるのか、すなわち治療関連MDSと自然発症MDSのどちらかに類似するのか、それとも両者と異なる点があるのか、十分に検討されておらず、全く解明されていない。

こうした解析は放射線誘発造血器腫瘍の発症並びに臨床的特徴がどのようにして規定されており、自然発症例とどう違うのかを検討する上で極めて重要な情報を提供すると考えられる。

2. 研究の目的

原爆放射線被ばくの結果として発生してきた可能性が高い被爆者MDSと自然発症例を比較し、放射線誘発性腫瘍特異的塩基変化あるいはゲノム変化が存在するのか、両者に臨床的な相違があるのかを検証するのが本研究の大きな目的である。

(1) 臨床的特徴の解析

被爆者MDS症例と非被爆者MDS症例の基本的所見(性別比、発症年齢)、血液学的特徴(末梢血・骨髄所見、病型、予後グループ)、細胞遺伝学的所見、臨床経過(先行する化学療法・血液異常の有無、白血病化、予後)を比較し、差を検討する。これによって被爆者MDSの臨床的特徴を明らかにできる。特に、被爆者MDSが治療関連MDSとしての臨床的特徴を有しているのかを解明する。

(2) ゲノム異常の解析

被爆者発症例のMDS(腫瘍)細胞を対象として腫瘍内体細胞変異、コピー数変化・構造異常を抽出する。塩基変化は次世代シーケンサーを使ったexome解析および全ゲノムシーケンスを行う。コピー数変化・構造異常の

検出については、全ゲノムシーケンスまたはDNAマイクロアレイ解析を行う。これらの結果を用いて、原爆放射線誘発性MDSの発症メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 長崎県における被爆者MDS臨床症例の集積および臨床情報の収集:長崎県では、長崎大学原研内科およびその関連病院の血液内科部門において血液悪性腫瘍の90%以上を診断、診療している(Matsuo E, et al. Int J Hematol. 2007; 85: 132-9.)。これらの施設の協力を得て県内のMDS症例を抽出し、その中の被爆者MDS症例を同定し、染色体核型を含んだ臨床情報を収集する。同時に、ゲノム解析可能な検体(末梢血および皮膚/口腔粘膜)を収集する。被爆者MDSは被ばく後40年以上を経過した現在でも有意に発症率が上昇しており(放射線1Gy当たりの相対過剰リスク=4.3. Iwanaga M, et al. J Clin Oncol 2011; 29: 428-34.)被ばくによる影響を保持している可能性が高い。

(2) 検体のゲノム解析:被爆者MDSの腫瘍細胞を収集し、次世代シーケンサを用いて全ゲノムシーケンス、エクソーム解析、DNAマイクロアレイ解析を実施する。マッピング等の解析後にサンガーシーケンスなどによって変異確認を追加する。

4. 研究成果

(1) 被爆者MDSの臨床的特徴に関する解析

解析対象患者140名は(1)1.5km未満31名(22.1%)、(2)1.5-3km未満35名(25.0%)、(3)3.0km以上74名(52.9%)の3群に分けられた。73例(52%)が男性、診断時年齢の中央値は72歳(42-95歳)。骨髄中芽球割合については、5%未満と5%以上が、それぞれ95名(68%)、38名(27%)であった。男女比・被爆時年齢・診断時年齢・診断年・発症までの期間・MDS病型に関しては被爆距離別3群間で有意差を認めなかった。染色体異常を有する症例は(1)1.5km未満で77%、(2)1.5-3km未満で57%、(3)3km以上で45%と、近距離被爆者に有意に多かった。また染色体異常をIPSS及びIPSS-Rに準拠して分類すると、予後不良となる染色体異常が近距離被爆距離に有意に多く認められた。しかし、IPSS及びIPSS-R総スコア評価においては近距離被爆者ほど予後不良な傾向を認めしたが、有意差は認められなかった。観察期間中に47人(34%)の患者が白血病化を来し、106人(75.7%)が死亡した。生存期間の中央値は3.2年だった。OS、EFSはいずれも近距離被爆者ほど不良な傾向が認められたが被爆距離別の有意差はなかった。多変量解析でも被爆距離は生存、白血病化のいずれに関して独立した予後因子ではなかった。

長崎原爆被爆者に発症したMDSの臨床的特徴・白血病化・生存に及ぼす因子について解

析した。近距離被爆者ほど MDS 発症が増加するだけでなく、予後不良な染色体異常を有意に高頻度で有し、更に OS や EFS が短くなる傾向が認められたが予後に有意差はなかった。原爆放射線による染色体異常の誘発が MDS 発症や予後に関与する可能性が示唆された。本研究では原爆放射線による被ばく、すなわち、一回、外部照射かつ全身性に被ばくした集団を扱っている。一般に先行する悪性腫瘍に対する化学療法や放射線療法後に発症する MDS は治療関連 MDS として定義されているが、*de novo* MDS と比較して複雑型染色体異常の出現頻度が高く、白血病進展率も高く、治療反応性も悪く、予後不良であることが多くの臨床研究で示されている。被爆者 MDS は、高頻度の染色体異常など治療関連 MDS の病態と類似点も考えられるが、予後は必ずしも不良とは言えなかった。

結論として本研究において被爆距離と MDS 予後との有意な関連性は示されなかったが、染色体異常の発生率の高さととの有意な関連がみられた。染色体異常は一般的に予後不良や AML 進展に大きく影響するが、本研究では白血病化までの期間や OS、EFS は不良な傾向に留まり、被爆距離は独立した予後不良因子ではなかった。これはサンプルサイズの問題、複数の交絡因子が関与した可能性などが考えられる。更に長期間のフォローアップ、被爆者 MDS における染色体異常の詳細な解析などが必要と考えられた。

(2) 被爆者 MDS のゲノム解析

症例 1

73 才の男性。発熱と食欲不振で受診し、白血球数の上昇と場球の出現を指摘された。骨髓穿刺の結果、急性骨髄性白血病 (AML) の診断となった。寛解導入化学療法を受け完全寛解に到達し、さらに地固め療法を受けた。その後は無治療で経過観察されたが、発症から 2 年を経過する頃から血小板数が上昇し始め、発症後 3 年次には血小板数が 60 万/ μ L を超えるようになった。精査の結果、骨髓増殖性腫瘍/分類不能型 (MPN-U) と診断された。AML のような芽球の増加は認めなかった。

この症例の AML 診断時、AML 寛解時、MPN-U 診断時の 3 ポイントで全エクソシーケンス、ターゲットシーケンスを用いてゲノム変異を解析した。その結果、AML 診断時には TET2, SRSF2, GATA2 NPM1, ASXL1 などの遺伝子に変異がみられた。興味深いことに AML 寛解期検体においても TET2, SRSF2, GATA2 遺伝子変異は存在しており、アレル頻度も低下していなかったが、NPM1, ASXL1 等の変異は低頻度となっていた。MPN-U 診断時には、やはり TET2, SRSF2, GATA2 変異が同定され、加えて JAK2, GNAS 変異が同定された。以上より、本例においては TET2, SRSF2, GATA2 に変異を有する同一クローンから AML および MPN-U という異なる二つの造血器腫瘍が発生したと考えられた。

症例 2

54 才の男性。MDS と診断された時点では、MDS 病型は不応性貧血 (RA) で、骨髓細胞の染色体検査は正常核型 (46, XY) を示していた。2 年後に MDS の病型が進展し、が球増加を伴う RA (RAEB) と診断されたときの骨髓細胞染色体は 46, XY, 20q- と変化しており、新たに 20 番染色体の長腕欠損を伴っていた。その 7 ヶ月後にフィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph+ALL) を発症した。Ph+ALL 発症時の染色体は 46, XY, t(9;22)(q34;q11), 20q- であり、MDS 時の細胞から Ph+ALL が発症したと考えられた。RAEB, Ph+ALL のそれぞれの診断時検体を用いてゲノム解析を実施した。

その結果、RAEB 期には U2AF1, ASXL1 遺伝子に変異が同定された。Ph+ALL 診断時にはこれらの変異に加えて SETBP1, SMC1A, BCR-ABL1 融合遺伝子が同定された。以上より、MDS からの Ph+ALL 発症という稀な例であったが、両疾患が同一の白血病幹細胞由来であることが示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

Matsuo M, Iwanaga M, Kondo H, Soda M, Jo T, Horio K, Takasaki Y, Kawaguchi Y, Tsushima H, Imaizumi Y, Imanishi D, Taguchi J, Sawayama Y, Hata T, Miyazaki Y: Clinical features and prognosis of patients with myelodysplastic syndromes who were exposed to atomic bomb radiation in Nagasaki. *Cancer Sci* 107(10):1484-1491, 2016. [doi: 10.1111/cas.13025] 査読有

Pfeilstöcker M, Tuechler H2, Sanz G, Schanz 4, Garcia-Manero G, Solé F, Bennett JM, Bowen D, Fenaux P, Dreyfus F, Kantarjian H, Kuendgen A, Malcovati L, Cazzola M, Cermak J, Fonatsch C, Le Beau MM, Slovak ML, Levis A, Luebbert M, Maciejewski J, Machherndl-Spandl S, Magalhaes SM, Miyazaki Y, Sekeres MA, Sperr WR, Stauder R, Tauro S, Valent P, Vallespi T, van de Loosdrecht AA, Germing U, Haase D, Greenberg PL. Time-dependent changes in mortality and transformation risk in MDS. *Blood* 128(7):902-910, 2016. [doi: 10.1182 / blood-2016-02-700054]. 査読有

Kawai N, Matsuda A, Jinnai I, Ichimura T, Kayano H, Okamura D, Ishikawa M, Maeda T, Hata T, Miyazaki Y, Asou N, Bessho M, Tomonaga M. Proposal of criteria for dyserythropoiesis in the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol*. 103(2):227-233, 2016. [doi: 10.1007

/s12185-015-1916-8.]査読有
Baba M, Hata T, Tsushima H, Mori S, Sasaki D, Turuta K, Hasegawa H, Ando K, Sawayama Y, Imanishi D, Taguchi J, Yanagihara K, Tomonaga M, Kamihira S, Miyazaki Y: The Level of Bone Marrow WT1 Message is a Useful Marker to Differentiate Myelodysplastic Syndromes with Low Blast Percentage from Cytopenia due to Other Reasons. *Intern Med* 54(5):445-451,2015. [doi: 10.2169/internalmedicine.54.3123.]査読有

Wong YF, Micklem CN, Taguchi M, Itonaga H, Sawayama Y, Imanishi D, Nishikawa S, Miyazaki Y, Jakt LM. : Longitudinal Analysis of DNA Methylation in CD34+ Hematopoietic Progenitors in Myelodysplastic Syndrome. *Stem Cells Transl Med.* 3(10): 1188-1198, 2014. [doi:10.5966/sctm.2014-0035.]査読有

Hata T, Imanishi D, Miyazaki Y.: Lessons from the Atomic Bomb About Secondary MDS. *Curr Hematol Malig Rep.* 9(4): 407-411, 2014. [doi: 10.1007/s11899-014-0235-0]査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

Masataka Taguchi, Tomoko Kohno, Hiroyuki Mishima, Hiroaki Taniguchi, Hidehiro Itonaga, Takeharu Kato, Shinya Sato, Akira Kinoshita, Tomoko Hata, Yukiyoshi Moriuchi, Koh-Ichiro Yoshiura, Yasushi Miyazaki.: Clonal evolution underlying the progression from MDS to Ph-positive ALL. 日本血液学会学術総会 平成 28 年 10 月 15 日 「パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)」
宮崎泰司: 骨髄異形成症候群の病態と治療-最近の進歩- 日本検査血液学会 平成 28 年 8 月 6 日 「福岡国際会議場(福岡県・福岡市)」

Shinya Sato, Yasushi Miyazaki, Hidehiro Itonaga, Masataka Taguchi, Yasushi Sawayama, Daisuke Imanishi, Tomoko Hata, Yukiyoshi Moriuchi, Hiroyuki Mishima and Koh-Ichiro Yoshiura : Acute Monoblastic Leukemia and Myeloproliferative Neoplasm Observed in an Elderly Man Had the Same Clonal Origin. 57th Annual Meeting and Exposition, American Society of Hematology 2015 年 12 月 6 日 「オーランド(米国)」

宮崎泰司: 原爆被爆者における造血器腫瘍の疫学 日本公衆衛生学会総会 平成 27 年 11 月 5 日 「長崎ブリックホール(長崎県・長崎市)」

6 . 研究組織

(1)研究代表者

宮崎 泰司 (MIYAZAKI, Yasushi)
長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授
研究者番号： 4 0 3 0 4 9 4 3

(2)研究分担者

吉浦 孝一郎 (YOSHIURA, Koh-Ichiro)
長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授
研究者番号： 0 0 3 0 4 9 3 1