

次世代シーケンサーを用いた骨髄異形成症候群の病態解明

京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学 特定助教 吉田 健一



背景

骨髄異形成症候群（MDS）は、治療抵抗性の血球減少、急性骨髄性白血病（AML）への移行を特徴とする難治性の血液疾患である。高齢者に好発することから、人口の急速な高齢化に伴って今後発症頻度の大きな上昇が予測されている。現時点では造血幹細胞移植以外に治療が期待できる治療方法がないが、高齢な患者へは副作用の観点から適応が制限されることから、有効かつ副作用の少ない治療薬剤の開発が求められていた。そのため、MDSの治療成績向上のために、MDSにおける遺伝学的基盤を明らかにし、治療標的となる遺伝子異常や予後予測を可能にする分子マーカーを明らかにすることが必要であった。

これまでに私たちの研究室では次世代シーケンサーを用いた全エクソンシーケンスによりMDSにおいて高頻度にRNAスプライシング因子の遺伝子変異がみられ、変異がMDSなどの骨髄細胞の異形成を特徴とする骨髄性腫瘍に特徴的であることを報告し、その後MDSの分子病態の理解が急速に進むことになった。さらに、MDSにおいては遺伝子変異の有無が予後と関連することが明らかになってきた。一方、従来MDSにおいて予後予測に用いられていたIPSS（International Prognostic Scoring System：国際予後判定システム）および改定されたIPSS-Rでは骨髄中の芽球の割合、染色体異常、血球減少という臨床データのみでリスク分類を行っており、そこでは遺伝子変異の情報は組み込まれていなかった。従って、多数例においてRNAスプライシング因子などの遺伝子変異を解析し、さらに変異と予後との関係などは明らかにする必要がある。

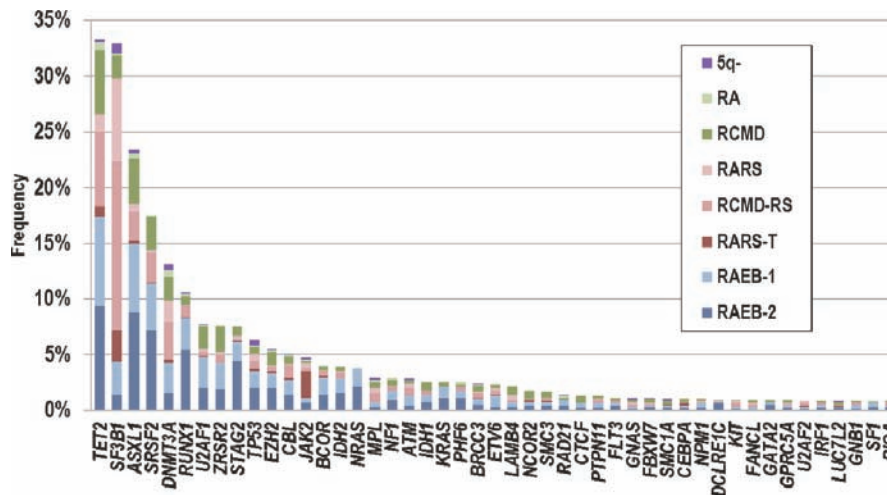
研究方法

944症例のMDSおよび関連する骨髄性腫瘍についてMDSで変異の報告のある遺伝子など104個の遺伝子について、次世代シーケンサーを用いた標的遺伝子シーケンスを行った。具体的には腫瘍検体由来のDNAを、アジレント社のSureSelectを用いて標的とした104遺伝子のエクソン領域を含むDNA断片を濃縮し、次世代シーケンサーで遺伝子変異を解析した。

研究成果

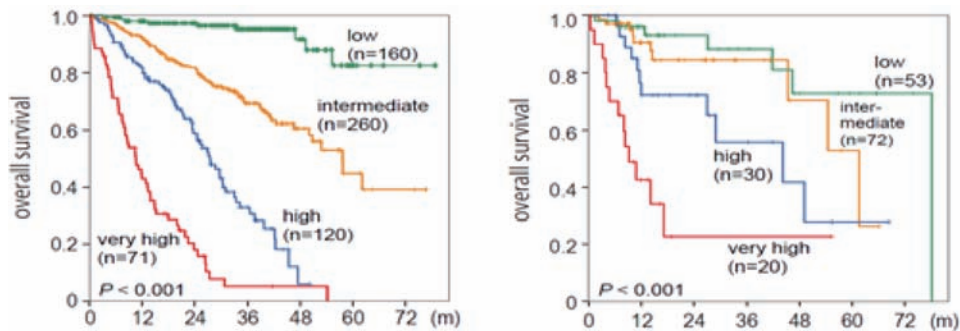
解析の結果、96遺伝子で2764個の遺伝子変異が同定され、また、解析を行った944症例中の845例（89.5%）で少なくとも1個の遺伝子異常が同定された（中央値：3個、0-12個）。47個の遺伝子は偶然起こるよりも有意に遺伝子変異が多いと考えられ、特に*TET2*、*SF3B1*、*ASXL1*、*SRSF2*、*DNMT3A*、*RUNX1*遺伝子は10%以上の症例で変異がみられた（図1）。変異の数は進行した病型のMDSで多い傾向があり、変異の獲得とともにMDSが進行していると考えられた。変異はRNAスプライシング経路の遺伝子の変異が64%と最も高頻度に認められ、続いてDNAメチル化、クロマチン修飾、転写などに関わる遺伝子の変異が認められた。

図1 MDS944例における遺伝子異常



情報が得られた875症例について予後解析を行ったところ、25個の遺伝子が予後に影響することが明らかになった。このうち、14個の遺伝子と年齢、性別などの臨床データを組み合わせた予後解析モデル（“Model-1”）を作成したところ、低リスク、中間リスク、高リスク、超高リスクで3年の生存率は95.2%、69.3%、32.8%、5.3%と有意に全生存率の異なるリスクに分かれた（図2）。また、“Model-1”は従来のIPSS-Rに比べても優れた予後予測が可能であり、遺伝子変異の情報を組み合わせることで予後予測が改善すると考えられた。

図2 遺伝子変異と臨床データを組み合わせた予後予測モデル



まとめ

MDSにおいては多くの症例で遺伝子変異がみとめられ、特にRNAスプライシングに関わる遺伝子の変異などがMDSの発症に関わっていることが明らかになった。さらに、複数の遺伝子変異の情報を臨床データとあわせれば従来よりも優れた予後予測が可能であり、治療方針の決定などに有用であると考えられた。現在、国際的なワーキンググループでも遺伝子変異の情報を組み込んだ予後予測モデルについて検討され、今後実際に臨床の現場でも役立つことが期待されている。