

## 〔課程-2〕

## 審査の結果の要旨

氏名 永田 安伸

本研究は骨髄異型性症候群（以下 MDS）の病態に関わる遺伝子異常について様々な病型を含む多数症例において解析を行い、変異頻度やコピー数異常だけではなく、それらの新たな相関やクローン進化に関わる変異の序列関係を同定した。しかし、最も重要な発見は、従来の臨床学的な予後予測モデルを上回るような新たな予後予測モデルを構築することができた点である。これらの新たな知見を踏まえ審査会での質疑応答が行われ、下記に示す点を考察しさらに論文に改善が加えられている。

1. 急性骨髄性白血病（以下 AML）や骨髄増殖性疾患、再生不良性貧血といった類縁の造血器腫瘍と比較検討を行うことで MDS に特徴的な病態が明らかとなる。また、遺伝子異常のある再生不良性貧血との境界線について考察する。

⇒AML で特徴的な *FLT3* や *NPM1*, *CEBPA* といった遺伝子異常は MDS で低頻度であり、*TET2* や *RUNX1* などは AML でも MDS でも同程度の変異頻度であった。最近、再生不良性貧血でも MDS で認められるような遺伝子異常が報告されている。しかし、遺伝子異常を有する再生不良性貧血症例が、すべからく MDS のように末梢血に芽球が出現するようなことは観察されにくく、汎血球減少などの症状がないままそれらのクローンが存在し続けている症例もある。すなわち、遺伝子異常の有無のみで MDS と再生不良性貧血の境界を決定することは困難と考えられる。（論文内、序文に追記）

2. MDS に対する治療法と遺伝子異常との相関について考察する。

⇒解析コホートの 75% の症例で症状緩和治療のみが選択されており、化学療法やメチル化阻害剤など重点的な治療が行われているのは約 15% である。*SF3B1* 変異は症状緩和治療が施行されている群で高頻度であり、*ASXL1*, *STAG2*, *SRSF2* や *RUNX1* 変異は重点的な治療が行われている群で高頻度であった。免疫抑制療法単独が施行されている症例は本研究には含まれていなかった。（論文内、考察に追記）

3. 予後不良な MDS と AML への移行しやすさとの関連について検討し、予後不良となった症例の臨床学的特徴について考察する。

⇒予後不良 MDS で最も特徴的な臨床指標は骨髄の芽球細胞数である。すなわち骨髄

内の芽球細胞が増加することで、AML への移行しやすくなりその結果、予後不良となることが示唆された。(論文内、序文に追記)

4. *SF3B1* 変異の有無と予後との関連について、遺伝子変異数を 1 個に揃えた場合の予後に及ぼす影響について考察する。

⇒944 例の全コホートの中で予後が判明している 875 例について解析を行ったところ、*SF3B1* 変異を有する症例では有意に予後の改善が認められた。本解析結果は変異を 1 個のみ有する 160 症例に絞った場合においても再現性が確認され、*SF3B1* 変異を有する群はない群と比較し有意に予後の改善が認められた。(論文内、結果 (5) 遺伝子異常を含んだ新たな予後予測モデルの作成に追記、図 11B を追加作成)

5. 対象となった 104 個の遺伝子の詳細な選択基準について考察する。

⇒下記に示す6個の基準で選別しており、その根拠となっている論文についても追記し表にしてまとめて追加した。(論文内、方法、2 手法に追記し、表2Bを追加作成)

1) 2011年10月30日時点で、MDSもしくは他の骨髄系腫瘍で変異報告のある遺伝子 (51 個)

2) 2011年10月30日時点で、我々の研究室の全エクソン解析もしくは標的シーケンス解析により nonsense もしくは frameshift 変異が同定されている遺伝子 (13個)

3) 遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子 (2個)

4) 既知の標的と同族体 (4個)

以下の候補は全体で500Kbのカスタムアレイを作成する際の残りを埋めるためいくつか探索的に調査した。

5) 既知の変異遺伝子と同一もしくは類似の機能的パスウェイに認められる遺伝子(スプライシング3個、コヒーシ関連9個、DNA修復機構13個、エピゲノム4個、シグナル伝達2個)

6) ホモ欠失もしくはUPDなどのコピー数異常が認められ標的候補と考えられる遺伝子 (3個)

6. スプライシング遺伝子変異と実際のスプライシング機構の異常との関連について考察する。

⇒我々の研究室ではメジャーなスプライシング変異遺伝子の一つである *U2AF1* に変異を導入した変異体を細胞にトランスフェクションさせ、実際に変異の有無でスプライシング機構の異常が出現するのか検討を行った。RNA シーケンスにより、エクソンスキッピングや余計なイントロンが挿入されるなどスプライシング機構の異常が観察されたが、特定の遺伝子にこれらの異常が蓄積される結果は認められなかった。スプライシング遺伝子異常がスプライシング機構の異常を惹起することは同定されたが、その

異常を通して直接腫瘍化に関わっているかどうかは現時点では不明である。(論文内、考察に追記)

以上、本論文は、再生不良性貧血や骨髄増殖性疾患といった他の造血器腫瘍と比較検討を行うことでさらに MDS に特徴的な病態を明らかにした。今後の展望として、さらにシーケンスコストが低下することが見込まれており、これら予後不良に関連するような遺伝子異常を一般検査室レベルで同定を行い、個別化治療の選択が可能となることで、患者の治療成績改善につながることを期待される。本研究はこれまでなし得なかった多数症例における遺伝子異常を解明することで新たな予後予測モデルを構築し、今後の治療選択に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。