

研究協力者:千葉 滋 (筑波大学・教授)

研究要旨

骨髄伊形成症候群患者における近年の TET2 遺伝子異常の報告、および筆者ら自身による患者検体の TET2 遺伝子シーケンスなどの結果から、一部のリンパ腫が骨髄でクローン性に増殖している前駆細胞を母地として発症し、これがリンパ腫における原因不明の造血異常の原因の一部であることが推察される。そこで造血異常症と悪性リンパ腫合併に関する全国調査(予備調査)を行い、59名の患者が予備登録された。これに基づいて現在二次調査を行っている。

A. 研究目的

特発性造血障害の原因解明の一端として、悪性リンパ腫における造血異常に着目した。一部の悪性リンパ腫患者では、形態学的に腫瘍細胞浸潤のない骨髄において、腫瘍組織で見いだされる遺伝子変異と同一の変異が見いだされる。この場合、骨髄ではクローン性造血が行われており、これが悪性リンパ腫発生源母地になっていると推察される。

B. 研究方法

骨髄増殖性症候群(MDS)や骨髄増殖性腫瘍(MPN)、およびMDSやMPNとは診断されないものの何らかの造血異常があり、これら造血異常と同時または後に悪性リンパ腫が発症した症例の経験について、国内491の血液内科専門施設にアンケート調査を行った。

(倫理面への配慮)

患者情報の収集にあたっては、ヘルシンキ宣言(2008年ソウル修正)を遵守し、また「疫学研究に関する倫理指針」(平成14年6月17日;文部科学省、厚生労働省;平成20年12月1日一部改正)を遵守した上で、施設倫理委員会の承認を経て遂行した。

C. 研究結果

全国調査の結果、計70例での経験について回答を得た。このうち二次調査に協力可能と回答のあった59例について、二次調査を行うために計画書を作成し、二次調査研究について筑波大学倫理委員会の承認

を得た。調査内容は、施設名、診療科名、施設内症例識別番号、記載医師名、患者性別、対象となる造血異常症の診断名(分類名)、対象となる造血異常症診断時の患者年齢、悪性リンパ腫の診断名、悪性リンパ腫の発症時期、対象となる造血異常症に対する治療、他の悪性腫瘍の既往歴、合併症、それらの治療歴、対象となる造血異常症診断時の血算(日付)、対象となる造血異常症診断時の染色体検査結果(日付)、悪性リンパ腫診断時の血算(日付)、悪性リンパ腫生検検体の染色体検査結果(日付)、悪性リンパ腫の主要な免疫染色の結果、転帰、生存者における造血異常症の状態、生存者における悪性リンパ腫の状態である。現在対象施設からの回答を待っている。

D. 考察

筆者らは悪性リンパ腫9例で腫瘍とともに骨髄についてもTET2遺伝子の全長をシーケンスした。腫瘍でTET2遺伝子変異が認められたのは7例で、このうち4例で同一の変異が骨髄にも認められた。次の段階では、このようなケースにおいて、どのような造血異常が認められるのか、その異常がクローン性造血に基づくのか、などを多数例で明らかにする必要がある。

E. 結論

造血異常と悪性リンパ腫の合併例について回答を得た。59例について二次調査を行っている。

F. 研究発表

1. 論文発表

●Iwahashi S, Maekawa Y, Nishida J, Ishifune C, Kitamura A, Arimochi H, Kataoka K, Chiba S, Shimada M, Yasutomo K. Notch2 regulates the development of marginal zone B cells through Fos. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 418 (701-717)

● Sekine C, Koyanagi A, Koyama N, Hozumi K, Chiba S, Yagita H. Differential regulation of osteoclastogenesis by Notch2/Delta-like 1 and Notch1/Jagged1 axes. *Arthritis Res. Ther.* 2012; 14 (R45)

● Yokoyama Y, Suzukawa K, Okoshi Y, Nanmoku T, Obara N, Enami T, Hasegawa Y, Chiba S. Nine years interval between first and second bone marrow transplantations and subsequent long-term survival—a case of acute myeloid leukemia with MLL-AF6 fusion gene. *Ann. Hematol.* 2012; 91 (1491-1493)

● Machino T, Okoshi Y, Miyake Y, Akatsuka Y, Chiba S. HLA-C Matching Status Does Not Affect Rituximab-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity by Allogeneic Natural Killer Cells. *Immunol. Invest.* 2012; 41 (831-846)

● Sakata-Yanagimoto M, Chiba S. Notch2 and Immune Function. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2012; 360 (151-161)

●Nakamoto-Matsubara R, Nishikii H, Yamada K, Ito M, Hasegawa Y, Kurita N, Obara N, Okoshi Y, Suzukawa K, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto M, Noguchi M, Chiba S. Early Pathologic Findings of Bronchiolitis Obliterans after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Proposal from a Case. *Case Report Hematol.* 2012; 2012 (957612)

● Kamada Y, Sakata-Yanagimoto M, Sanada M, Sato-Otsubo A, Enami T, Suzukawa K, Kurita N, Nishikii H, Yokoyama Y, Okoshi Y, Hasegawa Y, Ogawa S, Chiba S. Identification of unbalanced genome copy number abnormalities in patients with multiple myeloma by single-nucleotide polymorphism genotyping microarray analysis. *Int. J. Hematol.* 2012; 96 (492-500)

● Goyama S, Takeuchi K, Kanda Y, Nanaya Y, Chiba S, Fukayama M, Kurokawa M. Post-transplant endothelial disorder after hematopoietic SCT: a blinded autopsy study. *Bone Marrow Transplantation* 2012; 47 (1243-1245)

● 坂田(柳元)麻実子、千葉 滋. エピゲノムとがん. *実験医学* 2012; 30 (2468-2473)

● 千葉 滋. MDS幹細胞. *血液内科* 2012; 65 (293-299)

● 千葉 滋. MDSの分子病態と分類. *カレントセラピー* 2012; 30 (13-18)

2. 学会発表

● Shigeru Chiba. The role of transplant physicians in nuclear disasters. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT 2012), 2012.4.1-4, Geneva, Switzerland

● Ayana Kon, Lee-Yung Shih, Yuichi Shiraiishi, Yusuke Okuno, Masashi Sanada, Kenichi Yoshida, Yasunobu Nagata, Shumpei Ishikawa, Aiko Sato-Otsubo, A Nishimoto, Claudia Haferlach, Daniel Nowak, Yusuke Sato, Masao Nagasaki, Hiroko Tanaka, Kenichi Chiba, Naoshi Obara, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Ken Ishiyama, Florian Noltze, Wolf-Koeffler Hofmann, Shuichi Miyawaki, Shigeru Chiba, Hiraku Mori, H. Phillip Koeffler, Torsten Haferlach, Satoru Miyano, Seishi Ogawa. Recurrent mutations of multiple components of cohesin complex in myeloid neoplasms. 17th Congress of EHA, 2012.6.14-17, Amsterdam RAI, The Netherlands

●Takayasu Kato, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yasuyuki Miyake, Hideharu Muto, Hidekazu Nishikii, Yasuhisa Yokoyama, Terukazu Enami, Yuhei Kamada, Shigeru Chiba. Transcription factor Hes1 functions as a tumor suppressor in MLL-associated acute leukemias. 第71回日本癌学会学術総会, 2012.9.19-21, 札幌

●Takayasu Kato, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yasuyuki Miyake, Hidekazu Nishikii, Yasuhisa Yokoyama, Shigeru Chiba. Transcription factor Hes1 functions as a tumor suppressor in MLL-associated acute leukemias. 第74回日本血液学会学術集会, 2012/10/19-21, 京都

● Mamiko Sakata-Yanagimoto, Shigeru Chiba. DNA hydroxymethylation in hematologic malignancies. 第74回日本血液学会学術集会, 2012/10/19-21, 京都

● Terukazu Enami, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Hideharu Muto, Yukitsugu Asabe, Momoko Yamada, Yuhei Kamada, Truong Phu, Hirotaka Matsui, Toshiya Inaba, Shigeru Chiba. TET2 regulates erythropoiesis from human cord blood progenitors. 第74回日本血液学会学術集会, 2012/10/19-21, 京都

● Hideharu Muto, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Terukazu Enami, Yuhei Kamada, Truong Phu, Yasuyuki Miyake, Takayasu Kato, Yasuhisa Yokoyama, Hidekazu Nishikii, Naoshi Obara, Seishi Ogawa, Shigeru Chiba. Reduced TET2 expression confers enhanced competitive repopulation capacity on HSCs. 第74回日本血液学会学術集会, 2012/10/19-21, 京都

● Naoki Kurita, Kuniyoshi Fukuda, Hidekazu Nishikii, Yasuhisa Yokoyama, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Naoshi Obara, Yasushi Okoshi, Kazumi Suzukawa, Yuichi Has

egawa, Haruhiko Ninomiya, Shigeru Chiba.
Control of perisurgical hemolysis by temporal induction of eculizumab in a patient with PNH. 第74回日本血液学会学術集会, 2012/10/19-21, 京都

● Kenji Matsushita, Hidekazu Nishikii, Yasuhisa Yokoyama, Yosuke Kanazawa, Naoshi Obara, Takayasu Kato, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Shigeru Chiba. Identification of a new class of megakaryocyte progenitors in the mouse bone marrow. 第74回日本血液学会学術集会, 2012/10/19-21, 京都

● Takayasu Kato, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yasuyuki Miyake, Hidekazu Nishikii, Yasuhisa Yokoyama, Shigeru Chiba. Transcription Factor Hes1 Functions As a Tumor Suppressor in MLL-Associated Acute Leukemia. The American Society of Hematology 54th Annual Meeting and Exposition, 2012/12/8-11, Atlanta, USA

● Hidekazu Nishikii, Kenji Matsushita, Yosuke Kanazawa, Yasuhisa Yokoyama, Takayasu Kato, Naoshi Obara, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Shigeru Chiba. Implication of the Distinct Differentiation Pathway of Megakaryocytes From Hematopoietic Stem Cells in the Mouse Bone Marrow. The American Society of Hematology 54th Annual Meeting and Exposition, 2012/12/8-11, Atlanta, USA

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) クローンの拡大機序の解析

研究協力者：中熊秀喜 (和歌山県立医科大学血液内科・教授)

研究要旨

PNH 発症に必要な *PIGA* 変異クローンの拡大をもたらす機序には、造血障害免疫下の選択的生存と良性腫瘍様の増殖亢進の2説が検証されている。これらはお互いに排他的でなく協調して変異クローン拡大をもたらすことが有力視されている。我々は1つの *PIGA* 変異クローンが8年以上にわたり全血球を占拠し続けている症例のフローサイトメトリーや遺伝子解析により、NKG2D 免疫によるクローン選択および *HMGA2* 発現異常による増殖亢進の双方が協調してクローン拡大に寄与していると思われる所見を得た。

A. 研究目的

日本に比較的多い難治性特発性造血障害疾患である PNH の発症予防、早期診断、効果的治療法の確立をめざした分子病態研究の一つとして、PNH 発症に必要な変異クローンの拡大機序の解析を試みた。

B. 研究方法

PNH クローン量には患者間に個人差がある。我々は1つの *PIGA* 変異クローンが8年以上にわたり全血球を占拠し続けている特異な症例において、変異クローンの *PIGA* と *HMGA2* の遺伝子解析およびフローサイトメトリーによるグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) 結合蛋白と NKG2D リガンドの発現解析により変異クローン細胞特性を調べた。

(倫理面への配慮)

本研究は学内倫理審査委員会の承認および参加者の同意 (インフォームド・コンセント) を得て実施した。

C. 研究結果

この患者ではステロイド反応性の軽度の造血障害が認められた。また末梢血の赤血球、顆粒球とリンパ球全てが GPI 蛋白の DAF および CD59 を同時欠損する PNH 表現形を呈していた (図1)。顆粒球では *PIGA* のエクソン2の G (352) を欠損する単一変異クローン由来であった (図2)。この変異クローンは13年前の血球にも検出でき、同一

クローンによる造血が13年以上維持されていることを示唆する。また、これらの血球表面には NKG2D 免疫を誘発する NKG2D (MICA/B) が病的発現しており (図3)、我々が既に報告している NKG2D 免疫による造血細胞傷害を支持する。この免疫下では NKG2D リガンドの一つである GPI 結合型 ULBP を欠損する PNH クローンは相対的生存優位を獲得すると考えられる。このことは GPI 蛋白 ULBP が造血障害免疫に関与することも示唆する。一方、この患者の PNH クローンには脂肪腫などの良性腫瘍にみられる増殖亢進をもたらす *HMGA2* 発現亢進も検出された (図4)。

D. 考察

この患者では単一 *PIGA* 変異クローンによる造血が13年間以上続き、徐々に拡大してついに前血球を占拠している。この拡大には、特発性造血障害をもたらす免疫の候補として知られる NKG2D 免疫が働く病的造血環境における変異クローンの相対的優位生存、加えて *HMGA2* 発現亢進による良性腫瘍様増殖特性獲得の双方が協調して寄与していると思われる。従来、実験的には生存優位と増殖亢進の2特性が検証されている。今回の症例解析により、これら2つの細胞特性はお互いに排他的でなく協調して変異クローン拡大をもたらすことが臨床例でも支持されたことになる。多症例

解析で確認ができれば、PNHの発症予防、早期診断、効果的治療法の確立など臨床現場への活用も期待される。

E. 結論

PNH発症をもたらす *PIGA* 変異 (PNH) クローンの拡大は造血障害免疫の回避による選択的生存および良性腫瘍様の増殖獲得に依存することが特異な症例の解析により支持された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka N, Murakami Y, Nagata M, Horikawa K, Nagakura S, Yonemura Y, Murata S, Sonoki T, Kinoshita T, and Nakakuma H: Occupancy of whole blood cells by a single *PIGA* A-mutant clone with *HMGA2* amplification in a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria patient having blood cells with NKG2D ligands. *Br J Haematol (Lett)*. 2013;160 (114-116)

2. 学会発表

「該当なし」

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

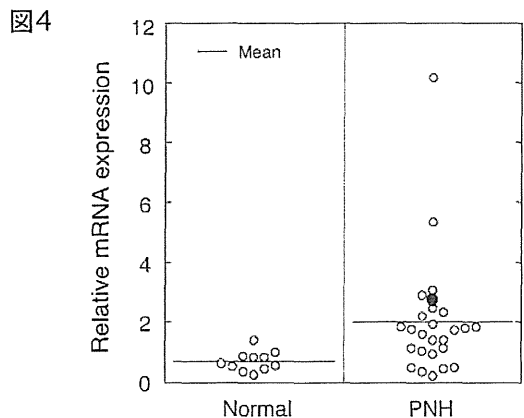
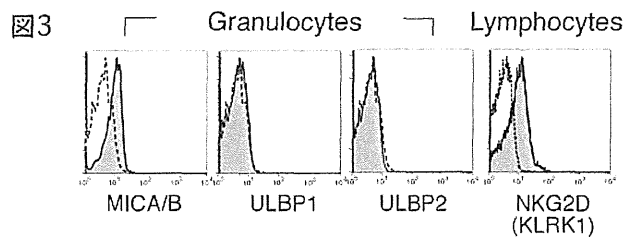
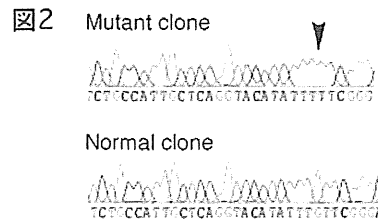
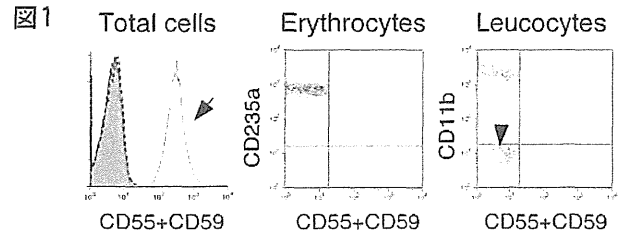
「該当なし」

2. 実用新案登録

「該当なし」

3. その他

「該当なし」



研究協力者 氏名 張替秀郎 (所属 東北大学大学院医学系研究科 役職 教授)

研究要旨

今回、日本における後天性鉄芽球性貧血の病態を明らかにする目的で、遺伝子解析を行った。その結果、後天性鉄芽球性貧血 (MDS) では、本邦においても *SF3B1* の遺伝子変異が既報通りの頻度で認められること、先天性鉄芽球性貧血においては *SF3B1* の遺伝子変異が認められないことが明らかとなった。

A. 研究目的

日本における後天性鉄芽球性貧血の病態を明らかにする。

B. 研究方法

遺伝子解析研究について所属施設の倫理委員会の承認を得る。主治医に患者本人もしくは保護者への説明・同意の取得がなされた上で、遺伝子解析を行う。

C. 研究結果

後天性鉄芽球性貧血 (MDS) では、10 例中 8 例で *SF3B1* 遺伝子の変異が認められた。一方で、先天性鉄芽球性貧血では *SF3B1* 遺伝子の変異は認められなかった。

D. 考察

これまでの報告通り、本邦においても *SF3B1* の遺伝子変異が既報通りの頻度で認められること、先天性鉄芽球性貧血においては *SF3B1* の遺伝子変異が認められないことが明らかとなった。これらの結果から後天性鉄芽球性貧血と先天性鉄芽球性貧血では発症原因が異なることが示唆された。

E. 結論

後天性鉄芽球性貧血と先天性鉄芽球性貧血では発症機序が異なることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ohba R, Furuyama K, Yoshida K, Fujiwara T, Fukuhara N, Onishi Y, Manabe A, Ito E, Ozawa K, Kojima S, Ogawa S, Harigae H. Clinical and genet

ic characteristics of congenital sideroblastic anemia: comparison with myelodysplastic syndrome with ring sideroblast (MDS-RS). *Ann Hematol.* 2012 Sep 16. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

研究協力者：松田 晃（埼玉医科大学国際医療センター造血器腫瘍科・教授）

研究要旨

Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) が公表された。IPSS-R では、骨髓の芽球比率の cutpoints の変更がされ、新たに 2% という低い cutpoint が採用された。この cutpoint (2%) と WHO 分類の病型との関連について検討を行なった。WHO 分類の refractory anemia (WHO-RA) 238 例、refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD) 448 例の骨髓の芽球比率の比較を行った。骨髓の芽球比率は RCMD 群 ($2.2 \pm 1.3\%$) では WHO-RA 群 ($1.8 \pm 1.1\%$) より有意に高値であった ($p=0.0011$)。骨髓の芽球比率が $>2 \sim <5\%$ の症例は WHO-RA 群 (28.2%) と比較し RCMD 群 (40.0%) で有意に高率であった ($p=0.0022$)。RCMD は WHO-RA と比較し、予後は不良である。IPSS-R では骨髓の芽球比率 2% という cutpoint が prognostic impact を示したが、これは骨髓の芽球比率が $>2 \sim <5\%$ の症例の中に、RCMD が WHO-RA より高率に含まれることが関与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

骨髓異形成症候群 (MDS) の予後予測に対し、International Prognostic Scoring System (IPSS) が最も広く用いられている。2012年に Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) が公表された。IPSS-Rでは、骨髓の芽球比率の cutpoints の変更がされ、新たに 2% という低い cutpoint が採用された。2% 以外の IPSS-R の cutpoints (5%, 10%) は WHO 分類の病型の定義に含まれるため病型診断と直結するが、2% という cutpoint は WHO 分類の病型の定義には含まれていない。骨髓の芽球比率の 2% という cutpoint と WHO 分類の病型との関連について検討する。

B. 研究方法

我々の既報 (Blood 2005;106:2633-2640) の data set を用いた。この data set の患者は未治療の原発性 MDS (日本例、ドイツ例) で病型は FAB 分類の refractory anemia (FAB-RA) である。WHO 分類の 5q- 症候群の患者は、今回の検討から除外した。患者を WHO 分類 (第3版) の refractory anemia (WHO-RA) と refractory cytopenia with multilineage

dysplasia (RCMD) に分類し、WHO-RA と RCMD の骨髓の芽球比率を比較した。

(倫理面への配慮)

埼玉医科大学国際医療センターの IRB の承認を受けている。匿名化を行っている。

C. 研究結果

1. WHO 分類の病型分類

WHO-RA は 238 例 (日本例: 96 例、ドイツ例: 142 例) であった。RCMD は 448 例 (日本例: 32 例、ドイツ例: 416 例) であった。

2. WHO 分類の病型と骨髓の芽球比率の比較

骨髓の芽球比率は RCMD 群 ($2.2 \pm 1.3\%$) では WHO-RA 群 ($1.8 \pm 1.1\%$) より有意に高値であった ($p=0.0011$)。

3. WHO 分類の病型と骨髓の芽球比率 $>2 \sim <5\%$ の関連

骨髓の芽球比率が $>2 \sim <5\%$ の症例は WHO-RA 群 (28.2%) と比較し RCMD 群 (40.0%) で有意に高率であった ($p=0.0022$)。

D. 考察

RCMD は WHO-RA と比較し、予後は不良であることが報告されている。IPSS-R で骨髄の芽球比率で 2% という低い cutpoint が prognostic impact を示したが、これは骨髄の芽球比率が >2~<5% の症例の中に、RCMD が WHO-RA より高率に含まれることが関与する可能性が示唆された。

E. 結論

今回の結果では、5q-症候群を除く未治療で原発性の FAB-RA において、WHO 分類の病型分類 (WHO-RA と RCMD) と骨髄の芽球比率 (<2% と >2~<5%) とに関連が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Matsuda A, Germing U, Miyazaki Y. Correlation between the low marrow blast cutpoint and WHO classification for myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol*. Published online: 22 November, 2012, as DOI 10.1111/ejh.12024.

● 荒関かやの, 松田晃, 通山薫, 石川隆之, 川端浩, 宮崎泰司, 中尾眞二, 朝長万左男, 高折晃史, 黒川峰夫, 小峰光博, 小澤敬也. 本邦における骨髄不全症候群診断のための検査に関する実態調査 *臨床血液*53 (7) : 691~697, 2012

● 松田晃. MDSの診断とリスク分類 *臨床血液*54 (1) : 14~28, 2013

2. 学会発表

該当なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

進行性骨髄異形成症候群の標準的治療法の確立に関する研究

研究協力者：松村 到（近畿大学血液・膠原病内科 教授）

研究要旨

本研究では、MDS 幹細胞の特性や機能を解析するとともに、MDS 幹細胞特異的な新規分子標的薬の開発を行うことを目的とする。本年度は、MDS 幹細胞特異的表面抗原の同定を目指し、MDS 患者骨髄の造血幹細胞分画における網羅的表面抗原解析を行った。その結果、ハイリスク MDS 症例の CD34+38-細胞分画において、急性骨髄性白血病の予後不良因子 Evi1 高値の細胞に特徴的に発現する表面抗原を複数同定した。今後は、これら抗原の発現の有無による MDS の新たな層別化について、さらには治療標的としての可能性について検討を行う予定である。

A. 研究目的

本研究では、MDS を根絶するための重要な標的と考えられる MDS 幹細胞の特性や機能を解析するとともに、MDS 幹細胞特異的な新規分子標的薬の開発を行うことを目的としている。

B. 研究方法

本年度は、MDS 幹細胞特異的表面抗原の同定を目指し、ハイリスク MDS 症例、及び MDS から AML 移行症例の骨髄造血幹細胞分画を分離、シングルセルレベルでの網羅的表面抗原解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究で用いる患者細胞については、当科において、サンプル採取前に患者およびその家族に本プロジェクトについての説明を行い、口頭、文書の両方で同意を得た後に分離、保存したものをを用いた。

C. 研究結果

ハイリスク MDS 症例の CD34+38-細胞分画において、急性骨髄性白血病の予後不良因子 Evi1 の発現を評価し、Evi1 高値、低値の細胞を用いて表面抗原の網羅的な解析を行った。その結果、Evi1 高値の細胞に特徴的な表面抗原として、CD96, MAGED4, NCAM, CLEC2, ENGなどを同定した。

D. 考察

今回、AML の予後不良因子 *Evi1* を対象として、MDS から AML 移行において 5 遺伝子の発現パターンに相関を認めた。各遺伝子の発現意義についてはさらなる検討が必要であるが、病勢の進展に伴いより強く相関を認めることから、これらの遺伝子の発現は予後を判定するだけでなく、新たな MDS に対する治療標的となりうると考えられた。

E. 結論

MDS 幹細胞はその表現型や遺伝子発現パターンからも heterogeneous な集団であると考えられる。Single Cell PCR 法を用い、表面抗原、細胞内機能分子の発現を同時に解析することにより、特定の遺伝子発現を有する細胞集団に特異的な表面抗原の同定が可能であった。

本研究を基盤として、MDS の新たな層別化について、さらには新規治療標的の開発に向け検討を行う予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Satoh Y, Matsumura I, Tanaka H, Harada H, Harada Y, Matsui K, Shibata M, Mizuki M, Kanakura Y. C-terminal mutation of RUNX1 attenuates the DNA-damage repair response in hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2012;26(303-311)

Ohyashiki K, Katagiri S, Tauchi T, Ohyashiki JH,
Maeda Y, Matsumura I, Kyo T.

Increased natural killer cells and decreased CD3(+)
CD8(+)/CD62L(+) T cells in CML patients who
sustained complete molecular remission after
discontinuation of imatinib. Br J Haematol 2012;
157(254-256)

Suzuki M, Tanaka H, Tanimura A, Tanabe K,
Oe N, Rai S, Kon S, Fukumoto M, Takei K,
Abe T, Matsumura I, Kanakura Y, Watanabe T.

The clathrin assembly protein PICALM is required
for erythroid maturation and transferrin
internalization in mice. PLoS One. 2012;7(2):
e31854.

第 35 回 日本造血細胞移植学会総会、2013.3.7～9、
石川

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

2. 学会発表

田中 宏和、松村 到

単一細胞遺伝子発現プロファイルを用いた白血病幹
細胞の同定とその特性解析

第 22 回日本サイトメトリー学会学術集会、2012.6.29
～30、大阪

Hirokazu Tanaka, Hiroshi Akimaru, Yuzuru Kanakura,
Itaru Matsumura

Identification and characterization of acute myeloid
leukemic stem cells by single cell gene expression profile

第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2012.7.26～28、大
阪

Yasuhiro Taniguchi, Yasuyoshi Morita, Yoichi Tatsumi,
Takashi Ashida, Itaru Matsumura

Experience of indolent malignant lymphoma treated with
bendamustine in our institute.

第 74 回 日本血液学会学術集会、2012.10.19～21、京
都

芹澤憲太郎、綿谷陽作、谷口康博、森田泰慶、川内
超矢、江本正克、平瀬主税、田中宏和、嶋田高広、
川西一信、宮武淳一、辰巳陽一、芦田隆司、松村 到
高リスク MDS に対する同種造血幹細胞移植前にア
ザシチジン投与を行った 4 症例の検討

研究協力者：矢部 普正（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・准教授）

研究要旨 先天性再生不良性貧血（AA）であるファンconi貧血（FA）は、造血障害の発症時期やMDS/AMLへの移行時期が症例毎に異なる。その発症機序の解明のため、ALDH2 遺伝子の解析を行ったところ、ALDH2 遺伝子型が変異型ホモの場合、骨髄不全とMDSの発症が極めて早く、ALDH2 変異型ヘテロでも骨髄不全の進行が早いことが判明した。そのほか、同種造血細胞移植後のドナー型造血不全の解明として、FAなど先天性AAでは認めないことや、後天性AAにおけるドナー型造血不全に対する治療効果から、一致同胞間移植では混合キメラ、代替ドナー移植ではサイトメガロウイルス感染の関与を明らかにした。

共同研究者

矢部みはる 東海大学基盤診療学系 准教授

A. 研究目的

ファンconi貧血（FA）は、身体異常、再生不良性貧血（AA）の発症時期やMDS/AMLへの移行時期が症例毎に異なり、その発症機序は不明である。FA細胞はホルムアルデヒドに強い感受性を示し、またFA遺伝子FANCD2と、ALDH2（acetaldehyde dehydrogenase 2）のダブルノックアウトマウスにより、両遺伝子間の強度の遺伝的相互作用が示され、アセトアルデヒドがFA症状の原因物質である可能性が報告された。造血障害とそれに続くMDS/AMLの発症機序の解明のために、FA細胞がホルムアルデヒドに感受性が強いことに着目し、ALDH2（acetaldehyde dehydrogenase 2）遺伝子の解析を行った。

また、造血細胞移植後のドナー型造血不全の合併が問題となっているため、自験例およびわが国の小児例におけるドナー型造血不全発症例の背景や治療的介入に対する効果から、ドナータイプ造血不全の病態を検討した。

B. 研究方法

東海大学小児科・細胞移植科において同種造血細胞移植を施行したFA症例のうち、遺伝子診断

で相補群が確定し、保存DNA量が十分でかつ本人あるいは両親から同意が得られた55例において、ALDH2遺伝子型の検索を行った。野生型ホモのAA型、変異型ヘテロのAG型、変異型ホモのGG型の臨床的特徴と、骨髄不全、MDS/AML移行時期との相関を解析した。

ドナー型造血不全の解明としては、移植後のサイトメガロウイルス（CMV）感染、short-tandem repeat（STR）法によるキメリズム解析の結果を参考に治療を選択した。すなわちSTR法で生着確認後ドナータイプ造血不全を呈した例に対し、①G-CSF/CyA併用投与、②DLIあるいは前処置なしのPBSC追加輸注、③長期フォスカビル投与、④再移植のいずれかを施行し、無効な場合に①から④の中の別の治療を試みた。

（倫理面への配慮）

造血細胞移植についてのインフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行われ、文書による同意を得た。

C. 研究結果

ALDH2遺伝子型の分布は、健常日本人の分布と差を認めず、変異型ホモの2名においては、骨髄不全とMDSの発症が極めて早かった。さらに、ALDH2変異型ヘテロでも骨髄不全の進行が顕著に促進されており、FA患者の造血幹細胞において、アルデヒドによるDNA傷害が、骨髄不全の原因となっている事が強く示唆され

た。

ドナー型造血不全は、先天性 AA に対する同種造血細胞移植の 73 例では 1 例も合併せず、後天性 AA の 65 例中 6 例に合併した。後天性 AA において、血縁者間移植では平均 7% の患者由来キメラ造血を認め、ドナーリンパ球輸注や末梢血幹細胞の追加輸注で改善した。非血縁移植では 100% ドナータイプであり、CMV 感染合併後にドナー型造血不全を発症した。G-CSF/CyA 併用投与は 3 例中 2 例で有効、DLI/PBSC は 7 例中 4 例で有効、フォスカビルは 2 例中 2 例で有効であった。再移植は 7 例で施行され、有効は 3 例のみであった。

D. 考察

FA は 15 の責任遺伝子が証明されているが、同一遺伝子でも身体異常の程度や造血障害の発症時期、MDS/AML への移行時期が異なる。すなわち、FA pathway 以外にも FA 発症に関与する遺伝子の多型性が存在していることが推測され、その機序を解明できれば、FA の発症の抑制につなげられる可能性がある。今回、FA 細胞がホルムアルデヒドに感受性が強いことに着目し、ALDH2 遺伝子の解析を行い、その変異が造血障害および MDS/AML の発症時期を大きく左右することが証明された。今後はアルデヒドを代謝する薬剤の開発や、FA 細胞あるいはモデルマウスにおける実験から治療法の開発につながると考えられた。

後天性 AA における同種造血細胞移植後のドナー型造血不全は、対応がもっとも困難な合併症の一つであり、その発症機序についても様々な推測がなされているのが現状で、系統的な診断あるいは治療的アプローチは確立されていない。今回の我々の解析では血縁ドナーと非血縁ドナーで異なり、前者では造血を抑制する本人由来の細胞傷害性 T リンパ球を抑制することで、後者では CMV 感染を抑制する、

E. 結論

FA における骨髄不全、MDS/AML の発症に ALDH2 遺伝子が関与している可能性が示唆され、後天性 AA の移植後ドナー型造血不全には、一致同胞間移植では混合キメラ、代替ドナー移植では CMV 感染の関与が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Tsukamoto H, Muroi K, Oshima K, Asami K, Takata M, Yamashita T, Kato S, Yabe H. Matched sibling donor stem cell transplantation for Fanconi anemia patients with T-cell somatic mosaicism. *Pediatr Transplant*. 2012 Jun;16(4):340-345. doi: 10.1111/j.1399-3046.2012.01669.x. Epub 2012 Mar 8.
2. Hatanaka K, Fuji S, Ikegame K, Kato R, Wake A, Hidaka M, Ito T, Inoue M, Nagatoshi Y, Takami A, Uike N, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Suzuki R, Atsuta Y, Fukuda T. Low incidences of acute and chronic graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation with low-dose anti-T lymphocyte globulin. *Int J Hematol*. 2012 Dec;96(6):773-80. doi: 10.1007/s12185-012-1209-4. Epub 2012 Nov 7.
3. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab*. 2012 Sep 7. pii: S1096-7192(12)00342-3. doi: 10.1016/j.yimgme.2012.09.004. [Epub ahead of print]

4. Kobayashi R, Fujita N, Mitsui T, Iwasaki F, Suzumiya J, Kuroda H, Nishimura R, Sasahara Y, Takeshita Y, Kato K, Okumura H, Sakamaki H, Yabe H, Kawa K, Kato K, Suzuki R. Stem cell transplantation for paediatric patients with non-anaplastic peripheral T-cell lymphoma in Japan. *Br J Haematol*. 2012 Oct;159(1):88-93. doi: 10.1111/bjh.12001. Epub 2012 Aug 9.
 5. Yabe M, Masukawa A, Kato S, Yabe H, Nakamura N, Matsushita H. Systemic mastocytosis associated with t(8;21) acute myeloid leukemia in a child: Detection of the D816A mutation of KIT. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 Dec 15;59(7):1313-6. doi: 10.1002/pbc.24250. Epub 2012 Jul 27.
 6. Shoji T, Bando T, Fujinaga T, Chen F, Kohno M, Yabe M, Yabe H, Date H. Posterior reversible encephalopathy syndrome due to immunosuppressant after living-donor lobar lung transplantation: report of a case. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2012 Apr 28. [Epub ahead of print]
2. 学会発表
国内学会
シンポジウム
1. Yabe H. Stem cell transplantation for bone marrow failure syndrome in children. The 54th Annual Meeting of the Japanese Society of Pediatric Hematology and Oncology. December 2012 Yokohama, Japan.
 2. 矢部普正 造血細胞移植におけるチーム医療 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年12月 横浜
 3. 矢部みはる Fanconi 貧血の臨床診断アプローチ 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会 2012 年 12 月 横浜
 4. 矢部みはる 先天性骨髄不全症候群における遺伝子解析と倫理的諸問題 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年12月 横浜
一般口演
 1. 矢部普正、長澤正之、谷ヶ崎博、堀部敬三、長谷川大一郎、富澤大輔、菊田敦、長祐子、後藤裕明、矢部みはる、日本小児白血病/リンパ腫研究グループ SCT 委員会小児造血細胞移植後早期合併症におけるリコンビナントトロンボモジュリンの有用性 第 35 回日本造血細胞移植学会総会 2013 年 3 月 金沢
 2. M Takata, A Hira, N Suzuki, A Niwa, T Nakahata, H Yabe, M Yabe. ファンコニ貧血経路とアルデヒド代謝の遺伝的相互作用解析 第 35 回日本分子生物学会年会 2012 年 12 月 福岡
 3. H Yabe, M Yabe, T Morimoto, T Shimizu, T Koike, K Otsubo, A Fukumura, S Kato. Viral monitoring using real-time PCR and virus-specific cellular immunity after stem cell grafting. 第 74 回日本血液学会学術集会 2012 年 10 月 京都
 4. M Yabe, Y Ohtsuka, K Watanabe, J Inagaki MD, N Yoshida, K Sakashita. H Kakuda, H Yabe, H Kurosawa, K Kudo and A Manabe. The JMML committee of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. Allogeneic HSCT for 30 children with juvenile myelomonocytic leukemia using Bu/Flu/L-PAM regimen 第 74 回日本血液学会学術集会 2012 年 10 月 京都
 5. M Takata, A Hira, H Yabe, K Matsuo, M Yabe. ファンコニ貧血経路とアルデヒド代謝の遺伝的相互作用解析 第 71 回日本がん学会学術総会 2012 年 9 月 札幌
 6. A Hira, H Yabe, K Matsuo, M Takata, M Yabe. アルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH2) 遺伝子型による日本人ファンコニ貧血患者の骨

髄不全促進効果 第 71 回日本がん学会学術
総会 2012 年 9 月 札幌

班会議その他口演

1. 矢部普正、矢部みはる 移植後にドナータイプの造血不全を呈した再生不良性貧血に対する治療の試み 特発性造血障害に関する調査研究班 平成 24 年度 第 1 回合同班会議総会 2012 年 7 月
2. 矢部普正 Treatment of donor-type bone marrow failure after allogeneic SCT. 第 19 回小児再生不良性貧血治療研究会 2012 年 6 月 名古屋

国際学会

1. Hira A, Yabe H, Matsuo K, Takata M and Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi Anemia patients. 24th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. September, 2012, Denver, USA.
2. Yabe M, Takahashi Y, Inagaki J, Koh K, Endo M, Kawa K, Kato K, Sakamaki H, Atsuta Y, Yabe H. Hematopoietic stem cell transplantation for Fanconi Anemia patients in Japan: An analysis of the registry data. 24th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. September, 2012, Denver, USA.
3. H. Yabe, M Nagasawa, H Yagasaki, K Horibe, D Tomizawa, A Kikuta, Y Cho, H Goto, M Yabe. Stem Cell Transplantation Committee of Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG), Isehara, Japan. Recombinant human soluble thrombomodulin is effective in the treatment of early complications after hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow

Transplantation. April 2012, Geneva, Switzerland.

4. M Yabe, H Yabe, T Shimizu, T Morimoto, T Koike, H Takakura, K Ohtsubo, A Fukumura, T Morimoto, H Yoshida, Y Ohtsuka, M Shiomi, S Kato. A fludarabine-based conditioning for alternative donor haematopoietic stem cell transplantation in inherited bone marrow failure syndrome. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. April 2012, Geneva, Switzerland.
5. H. Yabe, M Nagasawa, H Yagasaki, K Horibe, D Tomizawa, A Kikuta, Y Cho, H Goto, M Yabe. Stem Cell Transplantation Committee of Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG), Isehara, Japan. Recombinant human thrombomodulin is effective in the treatment of early complications after hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents. 23th Annual Meeting of the International BFM Study Group. April 2012, Santiago Chile.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

再生不良性貧血患者の臨床像などに関する縦断的検討

研究協力者：島田直樹（国際医療福祉大学基礎医学研究センター・教授）

研究分担者：太田晶子（埼玉医科大学医学部公衆衛生学・講師）

研究要旨

複数年度にわたる臨床調査個人票の個票データを患者単位でリンケージすることにより、臨床像、治療状況などについて縦断的に検討した。具体的には、2009年に新規申請した再生不良性貧血患者のうち2010年に更新申請した521名を解析対象として、新規申請から一年間の臨床像、治療状況などの変化を縦断的に検討した。その結果、2009年から2010年にかけて、治療状況の変化に関連して解析対象者の重症度が改善した一方で、自他覚症状の改善は小さかった。また治療状況における「成分輸血」も大きな変化を認めなかった。今後は、末梢血液検査などの臨床所見の変化も含めて、さらに長期間にわたる縦断的検討を行う必要があると考えられる。

A. 研究目的

近年の補充療法を含めた治療技術の進歩により、再生不良性貧血患者の生命予後は改善しており、長期間にわたり特定疾患治療研究事業の対象となる患者が少なからず存在する。そこで本研究では、複数年度にわたる臨床調査個人票の個票データを患者単位でリンケージすることにより、臨床像、治療状況などについて縦断的に検討することを目的とした。

B. 研究方法

表1に2003年から2011年までの入力された臨床調査個人票の数、当該年度の医療受給者証所持者数および入力率、登録者証所持者数を示す。

入力率を考慮して、2009年に新規申請した再生不良性貧血患者のうち2010年に更新申請した者を解析対象とした。新規申請から一年間の臨床像、治療状況などの変化を縦断的に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票の研究目的利用に関する要項に則って実

施した。

利用したデータには、個人名、住所、受療医療機関など個人を同定できる項目は含まれていない。

C. 研究結果

解析対象者は521名（男性215名、女性306名）であった。年齢は 57.4 ± 22.0 歳（1～93歳）であり、50歳代後半から増加して60歳代後半が最も多かった。約70%の患者は2009年に発病していたが、10年以上前に発病している患者も2.3%存在した。

2009年と2010年の両年とも重症度分類が記載されていた493名における重症度の変化を表2に示す。2009年は61.7%が重症（Stage3～5）であったのに対して、2010年は41.6%に減少していた。2009年から2010年にかけて改善した者は195名（39.5%）、不変の者は241名（48.9%）、悪化した者は57名（11.6%）であった。

貧血症状、出血症状、発熱の3種類の自他覚症状について、それぞれ2009年と2010年の両年とも記載されていた者における変化を表3-1から表3-3に示す。貧血症状ありは2009年77.6%、2010年64.2%、出血症状ありは2009年52.9%、2010

年 42.5%、発熱ありは 2009 年 22.6%、2010 年 25.0%であり、2009 年から 2010 年にかけて貧血症状と出血症状は減少していたが、発熱は変化していなかった。

「無治療で経過観察」「アンドロゲン療法」「免疫抑制療法」「造血細胞移植療法」「成分輸血」「サイトカイン療法」の 6 種類の治療状況について、それぞれ 2009 年から 2010 年における変化を表 4 に示す。2009 年から 2010 年にかけて「無症状で経過観察」が減少したのに対して、「造血細胞移植療法」「成分輸血」は大きな変化がなく、その他の治療は増加していた。

D. 考察

2009 年から 2010 年にかけて、解析対象者の重症度は改善した。これには治療状況の変化が関連していると考えられる。すなわち、2009 年から 2010 年にかけて「無症状で経過観察」が減少して、「アンドロゲン療法」「免疫抑制療法」「サイトカイン療法」が増加したことが関連していると考えられる。一方、「造血細胞移植療法」は、診療の参照ガイド¹⁾において 40 歳未満の重症例が適応とされているため、大きな変化が認められなかったと考えられる。

平成 22 年度衛生行政報告例によれば、2010 年の医療受給者証から登録者証への変更：184 名、登録者証から医療受給者証への変更：32 名であり、差し引きで 152 名が医療受給者証から登録者証に変更している。この大部分は病状が改善したためと考えられ、これを考慮すると、さらに重症度は改善していることが予想される。

その一方で、自覚症状の改善は小さかった。治療開始から 1 年という短期間では自覚症状には顕著な改善を認めにくかった可能性がある。また「成分輸血」も大きな変化を認めなかった。これらに関連して、今後は末梢血液検査などの臨床所見の変化も検討する必要があると考えられる。

E. 結論

これまで臨床調査個人票を用いた解析は年度単位で行われることが多かったが、本研究では 2009 年と 2010 年の個票データを患者単位でリンクすることにより、一年間の変化を縦断的に検討することができた。

今後は、さらに長期間にわたる縦断的検討を行う必要があると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

島田直樹，太田晶子，黒川峰夫，廣田良夫，中尾眞二．わが国の再生不良性貧血患者の治療状況．第 77 回日本民族衛生学会総会，2012 年 11 月 16 日，東京

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

H. 参考文献

- 1) 再生不良性貧血の診断基準と診療の参照ガイド改訂版作成のためのワーキンググループ．再生不良性貧血 診療の参照ガイド（平成 22 年度改訂版）．厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 特発性造血障害に関する調査研究班（平成 17～22 年度） 研究代表者 小澤敬也（編集）．特発性造血障害疾患の「診療の参照ガイド」（平成 22 年度改訂版）．2011(3); 3-32.

表1 再生不良性貧血の臨床調査個人票の入力状況など

	臨床調査個人票				医療受給者証	登録者証	総患者数
	新規	更新	合計	入力率	所持者数	所持者数	
2001					10,572		10,572
2002					10,619		10,619
2003	448	6,508	6,956	71.9%	9,680	823	10,503
2004	719	5,443	6,162	67.2%	9,173	1,336	10,509
2005	852	4,983	5,835	64.9%	8,997	1,825	10,822
2006	667	4,414	5,081	56.4%	9,010	2,149	11,159
2007	669	3,889	4,558	49.7%	9,162	2,568	11,730
2008	908	5,528	6,436	69.2%	9,301	2,714	12,015
2009	1,015	6,490	7,505	79.2%	9,479	2,914	12,393
2010	1,094	5,660	6,754	71.7%	9,417	2,952	12,369
2011	942	4,221	5,163	50.9%	10,148	3,200	13,348

表2 2009年と2010年の重症度

	2010年					合計	
	Stage1	Stage2	Stage3	Stage4	Stage5		
2009年	Stage1	51	7	5	0	0	63
		81.0%	11.1%	7.9%	0.0%	0.0%	12.8%
2009年	Stage2	36	69	14	5	2	126
		28.6%	54.8%	11.1%	4.0%	1.6%	25.6%
2009年	Stage3	29	19	48	11	4	111
		26.1%	17.1%	43.2%	9.9%	3.6%	22.5%
2009年	Stage4	42	15	14	52	9	132
		31.8%	11.4%	10.6%	39.4%	6.8%	26.8%
2009年	Stage5	16	4	9	11	21	61
		26.2%	6.6%	14.8%	18.0%	34.4%	12.4%
合計		174	114	90	79	36	493
		35.3%	23.1%	18.3%	16.0%	7.3%	

表3-1 2009年と2010年の貧血症状

	2010年		合計	
	あり	なし		
2009年	あり	305 77.8%	87 22.2%	392 77.6%
	なし	19 16.8%	94 83.2%	113 22.4%
合計	324 64.2%	181 35.8%	505	

表3-2 2009年と2010年の出血症状

	2010年		合計	
	あり	なし		
2009年	あり	174 65.7%	91 34.3%	265 52.9%
	なし	39 16.5%	197 83.5%	236 47.1%
合計	213 42.5%	288 57.5%	501	

表3-3 2009年と2010年の発熱

	2010年		合計	
	あり	なし		
2009年	あり	62 54.9%	51 45.1%	113 22.6%
	なし	63 16.2%	325 83.8%	388 77.4%
合計	125 25.0%	376 75.0%	501	

表4 2009年と2010年の治療状況

無治療で 経過観察	2010年		合計
	あり	なし	
2009年	あり	31 37	68
	なし	9 444	453
		45.6% 54.4%	13.1%
		2.0% 98.0%	86.9%
合計	40	481	521
		7.7% 92.3%	

アンドロゲン 療法	2010年		合計
	あり	なし	
2009年	あり	98 27	125
	なし	66 330	396
		78.4% 21.6%	24.0%
		16.7% 83.3%	76.0%
合計	164	357	521
		31.5% 68.5%	

免疫抑制療法	2010年		合計
	あり	なし	
2009年	あり	293 28	321
	なし	97 103	200
		91.3% 8.7%	61.6%
		48.5% 51.5%	38.4%
合計	390	131	521
		74.9% 25.1%	

造血細胞 移植療法	2010年		合計
	あり	なし	
2009年	あり	5 10	15
	なし	12 494	506
		33.3% 66.7%	2.9%
		2.4% 97.6%	97.1%
合計	17	504	521
		3.3% 96.7%	

成分輸血	2010年		合計
	あり	なし	
2009年	あり	139 75	214
	なし	84 223	307
		65.0% 35.0%	41.1%
		27.4% 72.6%	58.9%
合計	223	298	521
		42.8% 57.2%	

サイトカイン 療法	2010年		合計
	あり	なし	
2009年	あり	37 36	73
	なし	57 391	448
		50.7% 49.3%	14.0%
		12.7% 87.3%	86.0%
合計	94	427	521
		18.0% 82.0%	

「MDSにおけるヒストンメチル化酵素EZH2発現異常の意義」
に関する研究

研究協力者 富田 章裕 名古屋大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学 教授

研究要旨

骨髄異形成症候群（MDS）における種々の遺伝子変異が報告されている。特に、DNAメチル化やヒストン修飾にかかわるエピゲノム関連因子における変異が集積していることが明らかとなってきたが、その分子生物学的及び臨床的意義については、未だ十分には解明されていない。本研究では、既に遺伝子変異の存在が報告されているヒストン H3K27 トリメチル化酵素 EZH2 に着目し、その変異や発現の異常と MDS の病態形成、臨床症状との関連を明らかにすることを目的とした。MDS (N=31) における *EZH2* 遺伝子変異、染色体異常、発現異常について検討した。*EZH2* 遺伝子の存在する 7q35-36 を欠失する 7-17q-症例は 7 症例であった。また、半定量的 RT-PCR において、正常コントロールに比べ発現が亢進する症例は 12 症例 (38.7%)、発現が検出されなかった症例は 4 症例 (12.9%) であった。発現亢進症例の転写産物の cDNA をクローニングし、それぞれの配列を確認したところ、スプライシングバリエーション、複数塩基の挿入及び欠失を多数認められた。これらの中には、フレームシフトを起こす変化も多数確認された。*EZH2* 遺伝子発現が認められる症例においても、蛋白の機能は喪失している可能性も示唆され、これらの発現の意義については、今後の検討課題と考えられた。

A. 研究目的

MDS 患者における *EZH2* 遺伝子異常、発現異常の有無を確認し、その分子生物学的・臨床的意義について解析する。

B. 研究方法

MDS患者より採取された骨髄検体よりゲノム及び全RNAを採取して解析に用いた。ゲノムの一部は特発性造血障害MDS検体集積事業により、SNPアレイを施行した。ゲノムもしくはcDNAを用いて*EZH2*遺伝子の変異を確認した。また、定量的、半定量的RT-PCRを施行し、*EZH2* mRNA発現量を確認した。*EZH2* mRNA発現が正常コントロールよりも高い傾向にある症例に関しては、cDNAクローニングを行い、10クローン程度について遺伝子配列を確認し、スプライシングバリエーション、塩基挿入、欠失の有無などについて、確認をした。同時にスプライシング関連因子 (SF3B1, SRSF2, U2AF1) における遺伝子変異を確認し、その変異の存在と、スプライスバリエーション発現との関連について検討を加えた。

(倫理面への配慮)

検体採取とその保存、研究目的使用に関する同意を文書により取得した後に検討を行った。遺伝子解析を含む本研究内容は、当院倫理委員会にて承認を得ている。

C. 研究結果

MDS (N=31) 症例における染色体分析において、*EZH2* 遺伝子を欠失することが予想される 7-17q-を示す症例は 7 症例 (22.6%) であった。*EZH2* mRNA 発現の定量的、半定量的解析では、その発現量は症例ごとに有意な差が認められ、発現が検出できない症例は 4 症例 (12.9%)、正常コントロールに比べて有意に発現が高い症例は 12 症例 (38.7%) であった。

遺伝子発現が高い症例において、*EZH2* の open reading frame 部分の遺伝子配列を確認したところ、エクソンスキッピング (Exon 5, 12, 13, 14, 15, 16, 20 など) や種々の塩基配列挿入、欠失が多数確認された。中にはフレームシフトを来す欠失、挿入も確認され、それにより C 端に存在するヒストンメチル化酵素 (HMT) ドメインの欠失を来す可能性が推測された。このような異常 mRNA の発現とスプライス関連因子の変異症例との関連を検討したが、明らかな相関は確認されなかった。

D. 考察

これまでの報告によると、MDSにおける*EZH2* 遺伝子変異は、HMT活性が低下するloss of function型の変異とされている。MDSの病態としてHMT活性の低下が重要であるとすると、*EZH2* 発現低下については同様の病態として矛盾はないが、発現上昇については説明がつかない。高発現症例において、スプライシング異常や欠失挿入によって、C端欠失*EZH2*の発現が優位となる場合には、結果としてHMT活性の低下を来すこととなり、同様の病態が誘導される可能性が示唆される。これを明らかにするために、蛋白発現や酵素活性に関する検討が今後必要となる。

E. 結論

MDS 症例において、スプライス異常、欠失挿入をもつ異常 mRNA の発現を確認した。生物学的意義については、今後の検討課題である。

F. 健康危険情報

特になし。