

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の確立と実用化に関する研究
2. 研究開発代表者：独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター  
臨床研究センター 高度診断研究部 真田 昌
3. 研究開発の成果

本研究は日本小児白血病リンパ腫研究グループ JPLSG に属する豊富な臨床検体と臨床情報データベースを活用し、最新の研究成果をもとに協調をして、次世代のバイオマーカーによる早期診断技術の確立に取り組んでいる。すなわち、既に有用性が確立、もしくは強く期待されるバイオマーカーにおける新たな遺伝子解析技術の応用による実用化へ向けた検討を推し進めるとともに、網羅的な遺伝子解析手法を用いた、既存のマーカーでは層別化不能な症例に対する新規マーカーの探索と再発危険群を早期に捕捉するための診断技術の確立を目指している。

経時的に検体保存されていた再発白血病症例に対する全エクソン解析並びに deep sequencing による再発に至るクローン変化の解析、JPLSG 傘下の JACLS（日本小児白血病研究会）の多施設共同試験 ALL02 研究の登録症例 574 例の初発時検体を用いて、target capture シーケンスによる変異情報に基づく、再発リスク評価モデルの構築を進めている（真田）。難治性である Ph1/Ph-like ALL の鑑別を目的に 20 遺伝子の発現プロファイルによる診断系の確立を進めた。さらには、Ph-like ALL 以外の予後不良 ALL の診断法確立を目的に、再発・難治例で発現が特徴的な *BTG3* などの定量 PCR による解析系の確立に着手した（清河）。小児 ALL の網羅的遺伝子解析から新規のチロシンキナーゼ融合遺伝子 *OFD1-JAK2* と *NCOR1-LYN* を同定した。また、*ABL1*, *PDGFRB*, *JAK2* の FISH 解析系を確立し、*ABL1*, *PDGFRB* の FISH については、全国レベルでのスクリーニングを稼働させ、融合遺伝子陽性例が同定されている（今村）。AML-05 登録症例 49 例および AML-D05 登録症例 18 例のゲノムアレイ解析を行い、染色体検査結果との比較検討を行った。染色体分析とアレイの結果が一致したのは、染色体分析結果から 5q- の可能性が疑われた 11 例中 6 例、-7 を含む複雑核型を認めた 10 例では、アレイ-7 を確認できたのは 1 例のみで、適切な評価法の確立の重要性が再認識された（滝）。小児白血病の予後診断を目指して、小児白血病関連遺伝子約 150 種類からなる白血病パネルの開発を行った。ALL および AML 例の初発時・寛解期・再発時検体を本方法で解析し、0-5 個/症例の体細胞変異と *KRAS* などの胚細胞性変異が同定された（嶋田）。次世代シーケンサーを用いた深々度での微小残存病変の検出感度を希釈系列で検証し、少なくとも  $10^{-3}$ ~ $10^{-4}$  の残存病変は検出可能であることが確認できた。この検査系を用い、ALL の経過中にランゲルハンス組織球症を発症した患者の発症経過を時系列で解析することが可能であった（加藤）。血中 microRNA のバイオマーカーとしての検討により、AML1-ETO 陽性の AML では末梢血において高発現している microRNA 群が類似しており、それらは治療によって発現が低下することが確認された。また、そのうちの一部は再発時に上昇していたことから治療反応性を反映している可能性が高いと考えられる（平松）。平成 27 年度に小児 AML92 例において、正常核型症例を中心にトランスクリプトーム解析（RNA シークエンス）を施行し、多くの症例で既知、新規合わせて遺伝子再構成（染色体転座）の候補を同定した（柴）。融合遺伝子検索のために、小児 ALL 検体の RNA シーケンスを 24 検体について実施し、既知の融合遺伝子 *BCR-ABL1* 4 例、*TCF3-PBX1* 2 例、*ETV6-RUNX1* 2 例に加えて新規の融合遺伝子を 4 例で同定した。さらに、100~200ng の少量の RNA からライブラリー作成を行う方法を確立した（片岡）。