

平成 27 年度オーダーメイド医療の実現プログラム 成果報告書（公開）

研究開発代表者 (所属機関・氏名)	京都大学腫瘍生物学講座・牧島秀樹
研究開発課題名	高齢発症 AML/MDS における胚細胞変異に基づく個別化医療の確立

1. 研究開発の目的

わが国における高齢発症の骨髄腫瘍における責任胚細胞変異を発見し、臨床的意義を確認することが本研究の目的である。それにより、わが国において検診等のマススクリーニングにて使用できる遺伝子マーカーを決定する。本研究開発成果によって得られるアウトカムは、個人により多様性のある、将来の悪性腫瘍発症のリスクが予測可能となることであり、したがって、疾患の予防や早期発見・治療においてオーダーメイド医療を実現し、ひいては、医療資源の節約に大きく貢献できる。

2. 研究開発の概要

高齢発症骨髄異形成症候群/急性骨髄性白血病 (MDS/AML) のリスクを予測するために胚細胞変異の検索の意義を確認する。少なくとも、最も頻度が高い *DDX41* のアレルは、この研究により、高齢発症 MDS/AML に濃縮していることが証明される可能性が高い。そのために、バイオバンク・ジャパンの検体を用いた本研究が必須であり、それ以外の方法では科学的に証明されない。この *DDX41* のアレル発見がランドマークとなり、さらに、小児を含めた MDS/AML において重要と思われる胚細胞変異の評価を行う。この際、既に確立されている遺伝性 MDS/AML の原因胚細胞変異の非 MDS/AML 群における頻度の検索により、あらたな予測に適したアレルが発見される可能性がある。

興味深いことに、高齢発症 MDS/AML に伴う *DDX41* 胚細胞変異は、その対立アレルに体細胞変異を高頻度に認める。このことは、逆説的に、特定の悪性腫瘍において体細胞変異を高頻度に認める遺伝子には、生来、胚細胞変異が存在していることを示唆している。真性多血症における *JAK2* 変異、網膜細胞腫における *RBI* など、海外では特定のアレルが発見されているが、わが国での検討はいまだ、十分ではない。この観点から、本研究では、まず、高齢発症 MDS/AML において、高頻度に体細胞変異が認められる遺伝子を選び *DDX41* で認められるような 2 ヒットの変異が認められないかを確認する。

胚細胞変異は、全身に認められるため、家族性の MDS/AML 症例においても、しばしば全身症状・他疾患が認められることもある。胚細胞変異の陽性例における、バイオバンク・ジャパンの臨床的背景のデータから、全身の様々な症状との関連も明らかとなる。そして、この仮説を血液腫瘍以外のより高頻度の悪性腫瘍にも拡大可能である。

以上の研究では、わが国が世界に誇る、世界最大規模のコホート (バイオバンク・ジャパン) を、背景を適合させたコントロールとして解析できる点が最も重要である。それによりこの申請書で提案する研究は、最も適した共同研究ネットワークのもと可能となる。

3. 研究開発の成果 (平成 27 年度)

(1) MDS/AML における原因胚細胞変異の検索

1,000 例を超える、家族性および非家族性の高齢発症 AML/MDS 症例において、*DDX41* の標的シーケンスを行い、我が国独自の胚細胞変異を少なくとも 8 個発見した。これらは、すべて欧米から報告されたコーカサス人種に認められたリスクアレルとは異なり、新規の胚細胞変異であった。これらの変異は、

我々の 1000 例のコホートにおいて、少なくとも 2 人以上に認められ、すべての変異を併せると、陽性者はおおよそ 3%にものぼり、これまで報告がある胚細胞変異のうち、最大のリスクを呈していた。そのうちほとんどが、東アジア人のコントロール群、および 10,000 人を超えるバイオバンクジャパンの非血液疾患群（下記（2））に比較し、AML/MDS 群で有意に高頻度に認められた。さらに、これまで、胚細胞変異は小児期疾患において優先的に研究されてきたので、今回も、名古屋大学小児科と共同し、小児で *DDX41* 変異を検索したが、高齢者の疾患群に比較して有意に変異例が低頻度であった。以上により、本年度は、我が国における新規 *DDX41* のリスクアレルを発見し・評価することができマイルストーンは達成した。

（2）非白血病例における胚細胞変異の検索と、陽性例における疾患リスクの評価

バイオバンク・ジャパンの大規模サンプルを用いて、*DDX41* 遺伝子の標的シーケンス解析を行い、研究代表者である京都大学が解析した高齢発症 AML/MDS 症例における *DDX41* 遺伝子上のバリエーション頻度と比較可能な遺伝子バリエーション頻度を算出した。バイオバンク・ジャパンに登録された約 20 万症例のうち、がんの発症歴や家族歴がない 60 歳以上の男女 10,904 人（男性 5,767 人、女性 5,137 人）の DNA サンプルを用いた。このうち、シーケンスにより結果が得られた 10,864 名についてバリエーションコールを行い、66 個の *DDX41* 遺伝子バリエーションを同定した。これら 66 個のバリエーションについてアミノ酸配列への影響を解析したところ、9 個は遺伝子機能の喪失が予測される機能喪失型バリエーション、27 個はアミノ置換を引き起こすバリエーション、30 個はアミノ酸置換を引き起こさないバリエーションであった。また、1 個のアミノ酸配列の変わらないバリエーションはマイナーアレルの頻度が 5%以上のありふれたバリエーションであり、その他の 65 個は全てアレル頻度 5%未満のまれなバリエーションであった。以上、合計 66 個の *DDX41* 遺伝子バリエーションについて、ゲノム上の位置・アレル情報、アミノ酸配列への影響予測、および 10,864 人における遺伝子バリエーション頻度を取りまとめた。

（3）小児骨髄悪性腫瘍における胚細胞変異の検索

小児骨髄不全症候群検体において、家族性および非家族性の骨髄不全症候群を含む骨髄腫瘍における胚細胞変異の検索を行った。また、臨床的に小児骨髄不全 160 例について、関連する 180 遺伝子を対象にしたターゲットシーケンス解析および全エクソーム解析を実施したところ、2 例のみに胚細胞遺伝子変異が検出された。1 例では *RTEL1* 変異が検出され、テロメア長も軽度短縮していたことから、明らかな臨床症状は伴っていないものの先天性角化異常症であったと推定された。またもう 1 例では *DDX41* 変異が検出された。*DDX41* 遺伝子は、成人発症 MDS の原因遺伝子であり、これまでに若年小児での血液学的異常の合併は報告されておらず、貴重な症例であると考えられた。成人症例に比較して、小児では有意に *DDX41* 変異の頻度は低かった。

（4）多数例のコーカサス人種における *DDX41* 遺伝子の胚細胞変異を標的シーケンスによる検索

1,000 例を超える、コーカサス人種における高齢発症 AML/MDS 症例において、標的シーケンスを行い、*DDX41* の胚細胞変異の頻度及び臨床的意義を明らかにした。最も頻度が高い胚細胞変異である p.D140fs に関しては、家族性の症例において、高齢ではほぼ全員に発症していた。孤発例の AML/MDS における検討では、p.D140fs 変異はおおよそ 2%にものぼり、胚細胞変異による疾患リスクとしては最大の頻度で認められた。一般コーカサス人種コントロール（30,000 人以上）との比較により、オッズ比はおおよそ 19（95%信頼区間：5.8-59）であり、有意に AML/MDS 症例で疾患リスクが上昇していた。さらに、胚細胞変異がある症例では、セカンドヒットの体細胞変異が有意に高頻度に認められた。