

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名 : (日本語) 骨髄異形成症候群造血幹細胞移植症例におけるゲノム解析に基づいた革新的予後予測モデルの構築  
(英語) Innovative prognostic model based on genome analysis for myelodysplasia with hematopoietic stem cell transplantation
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 腫瘍生物学  
助教 吉里 哲一
- 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Pathology and Tumor biology, Kyoto University,  
Assistant Professor, Tetsuichi Yoshizato
- 実施期間 : 平成 28 年 9 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 骨髄異形成症候群造血幹細胞移植症例におけるゲノム解析に基づいた革新的予後予測モデルの構築  
開発課題名 : (英語) Creation of innovative prognostic model for myelodysplasia with hematopoietic based on genomics stem cell transplantation
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学 助教 吉里 哲一  
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Pathology and Tumor biology, Kyoto University,  
Assistant Professor, Tetsuichi Yoshizato
- 分担研究 (日本語) 検体収集体制の構築  
開発課題名 : (英語) Creation of system for specimen collection
- 研究開発分担者 (日本語) 一般社団法人日本造血細胞移植データセンター センター長 熱田 由子  
所属 役職 氏名 : (英語) Japanese Data Center for Hematopoietic Cell Transplantation,  
Scientific Director, Yoshiko Atsuta

- 分担研究 (日本語) 骨髄異形成症候群移植症例に対する標的シーケンス・  
標的シーケンスデータ解析
- 開発課題名: (英語) Targeted sequencing for myelodysplastic syndromes with  
hematopoietic syndromes, analysis of sequencing data
- 研究開発分担者 (日本語) 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 部長 真田 昌
- 所属 役職 氏名: (英語) Department of Advanced Diagnosis, Clinical Research Center,  
Nagoya Medical Center, Director, Masashi Sanada
- 
- 分担研究 (日本語) 骨髄異形成症候群移植症例に対する標的シーケンス・  
標的シーケンスデータ解析
- 開発課題名: (英語) Targeted sequencing for myelodysplastic syndromes with  
hematopoietic syndromes, analysis of sequencing data
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター  
DNA 情報解析分野 助教 白石 友一
- 所属 役職 氏名: (英語) Laboratory of DNA Information Analysis, Human Genome Center,  
Institute of Medical Science, The University of Tokyo,  
Assistant Professor, Yuichi Shiraishi
- 
- 分担研究 (日本語) 造血細胞移植における新たな予後予測モデルの構築・日本人における  
骨髄異形成症候群のゲノム異常の評価・DDX41 germline 変異の探索
- 開発課題名: (英語) Creation of prognostic model for myelodysplasia with hematopoietic  
stem cell transplantation, Evaluation of genomic alteration in  
myelodysplastic syndromes in Japanese, Exploration of DDX41  
germline mutation
- 研究開発分担者 (日本語) 学校法人自治医科大学 医学部 血液科 教授 神田 善伸
- 所属 役職 氏名: (英語) Division of Hematology, Jichi Medical University, Professor,  
Yoshinobu Kanda
- 
- 分担研究 (日本語) 造血細胞移植における新たな予後予測モデルの構築・日本人における骨髄  
異形成症候群のゲノム異常の評価・DDX41 germline 変異の探索
- 開発課題名: (英語) Creation of prognostic model for myelodysplasia with hematopoietic  
stem cell transplantation, Evaluation of genomic alteration in  
myelodysplastic syndromes in Japanese, Exploration of DDX41  
germline mutation
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学 講師 牧島 秀樹
- 所属 役職 氏名: (英語) Department of Pathology and Tumor biology, Kyoto University,  
Senior Lecturer, Hideki Makishima

分担研究 (日本語) 造血細胞移植における新たな予後予測モデルの構築・日本人における骨髄異形成症候群のゲノム異常の評価

開発課題名: (英語) Creation of prognostic model for myelodysplasia with hematopoietic stem cell transplantation, Evaluation of genomic alteration in myelodysplastic syndromes in Japanese

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人長崎大学病院 血液内科 助教 佐藤 信也

所属 役職 氏名: (英語) Department of Hematology, Nagasaki University, Assistant Professor, Shinya Sato

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

近年の次世代シーケンス技術の進歩に伴い、骨髄異形成症候群におけるゲノム異常の全貌が明らかになりつつあり、またその予後に対する影響も複数のグループから報告されている。一方で、骨髄異形成症候群における唯一の根治的治療は、同種造血幹細胞移植であるが、骨髄異形成症候群移植症例におけるゲノム異常の意義に関する知見は少ない。本邦における同種造血幹細胞移植は日本骨髄バンクを介して実施されている。我々のグループは、日本骨髄バンクより、約 800 例の骨髄異形成症候群移植症例の末梢血 DNA を入手し、次世代シーケンサーを用いて 69 遺伝子を標的とした標的シーケンスを実施した。コピー数異常を評価するためにゲノム全体に 1158 の SNP に対するプローブも設計し併せてシーケンスをした。シーケンスは国立病院機構 名古屋医療センター高度診断研究部の HiSeq2500 を用いて実施した。シーケンスデータの解析には、京都大学腫瘍生物学講座と東京大学医科学研究所ヒトゲノムセンターで共同開発した解析パイプラインである Genomon (<http://genomon.hgc.jp/exome/>)を用いて、東京大学医科学研究所のスーパーコンピューターShirogane3 を用いて解析し、変異・コピー数異常を同定した。75%の症例に変異を、40%の症例にコピー数異常・アレル不均衡を同定した。変異は、*U2AF1*、*RUNX1*、*ASXL1*、*TP53*に高頻度に認めた。コピー数異常に関しては、-7/del(7q)、del(5q)、17p LOH を高頻度に認めた。これらのゲノム異常は高リスクの骨髄異形成症候群で高頻度に認められることが知られており、移植症例で高リスク群が濃縮されていることが示唆された。詳細な臨床因子とともにゲノム異常の予後に与える影響を多変量解析で評価したところ、*TP53*、*NRAS*、*CBL* 変異、複雑核型が独立した予後不良因子として同定された。特に複雑核型を呈する *TP53* 変異陽性例の予後は極めて不良であった。全ハザードの 70%を臨床因子が占める一方、残りの 30%をゲノム因子が占めることが明らかになった。本研究により MDS 移植症例におけるゲノム異常の重要性が明らかになった。一方で、臨床因子も依然として非常に重要であり、複雑核型かつ *TP53* 変異陽性例に対する移植適応は、臨床因子とともに慎重に判断する必要があると考えられる。この成果を *Blood* 誌に発表した[In press]。

## 英文

Recent advancement of next generation sequencing technology revealed genetic landscape of myelodysplastic syndromes (MDS) and its effect on prognosis has also been reported by several groups. Although allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only curative therapy for patients with myelodysplastic syndromes, the impact of genetic alterations on the prognosis of those with HSCT has not been fully explored. In Japan, all the allogeneic bone marrow transplantations are coordinated by Japan Marrow Donor Program (JMDP). Here, we analyzed a large cohort of patients with myelodysplastic syndromes and related diseases in JMDP who were treated by unrelated HSCT. Peripheral blood DNA collected just before HSCT was subjected to targeted sequencing of 69 major driver genes. For copy number analysis, we also sequenced 1,158 SNPs which distribute across the entire genome. Sequencing was performed on the Illumina HiSeq 2500 at Nagoya Medical Center. To detect both somatic mutations and copy number alterations, we used our in-house pipeline “Genomon” (<http://genomon.hgc.jp/exome/>) implemented on the supercomputer “Shirokane3” at Human Genome center of The Institute of Medical Science, The University of Tokyo.

In total, mutations and copy number events including allelic imbalance were identified in 75% and 40% of the cases, respectively. Mutations were most frequently observed in *U2AF1*, followed by *RUNX1*, *ASXL1*, and *TP53*. As for copy number alteration, -7/del(7q), del(5q), and 17p loss of heterogeneity were most frequently observed. These alterations are known to be frequently observed in high-risk MDS. Together with mutations and chromosomal abnormalities, clonality was observed in 77% of the cases. Then, we evaluated the effect of identified genetic alterations on the prognosis together with detailed clinical information by multivariate analysis, which revealed that mutations in *TP53*, *NRAS*, and *CBL* and complex karyotype were significant poor prognostic factors for overall survival after HSCT. Cases with *TP53* mutation and complex karyotype showed extremely poor prognosis with frequent early relapse. Genetic factors explained 30% of the total hazards for overall survival, while clinical characteristics accounted for 70% of the risk.

We revealed importance of genetic alterations on survival of patients with MDS after HSCT. However, clinical characteristics of patients before HSCT were still predominant determinants of outcome. Therefore, indications for HSCT should be based on both clinical and molecular factors. We reported these achievements on *Blood* journal.

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. Yoshizato T, Nannya Y, Atsuta Y, Shiozawa Y, Iijima-Yamashita Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Suzuki H, Nagata Y, Sato Y, Kakiuchi N, Matsuo K, Onizuka M, Kataoka K, Chiba K, Tanaka H, Ueno H, Nakagawa MM, Przychodzen B, Haferlach C, Kern W, Aoki K, Itonaga H, Kanda Y, Sekeres MA, Maciejewski JP, Haferlach T, Miyazaki Y, Horibe K, Sanada M, Miyano S,

Makishima H, Ogawa S. Genetic abnormalities in myelodysplasia and secondary acute myeloid leukemia: impact on outcome of stem cell transplantation. Blood. 2017, In press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 骨髄異形成症候群移植症例における体細胞変異の影響, 口頭, 吉里哲一, 塩澤裕介, 吉田健一, 熱田由子, 南谷泰仁, 鈴木啓道, 片岡圭亮, 千葉健一, 白石友一, 神田善伸, 牧島秀樹, 宮野悟, 小川 誠司, 第 75 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜, 2016/10/6, 国内.
2. Impact of somatic mutations on outcome in patients with MDS after stem-cell transplantation, 口頭, 吉里哲一, 塩澤裕介, 吉田健一, 熱田由子, 南谷泰仁, 鈴木啓道, 松尾 恵太郎, 鬼塚真仁, 片岡圭亮, 千葉健一, 田中洋子, 白石友一, 青木恒介, 真田昌, 糸永英弘, 神田善伸, 宮崎泰司, 牧島秀樹, 宮野悟, 小川 誠司, 第 78 回日本血液学会学術総会, パシフィコ横浜, 2016/10/14, 国内.
3. Clinical significance of mutations and copy number lesions on prognosis of patients with MDS after unrelated bone marrow transplantation, ポスター, Yoshizato T, Atsuta Y, Shiozawa Y, Yoshida K, Nannya Y, Suzuki H, Matsuo K, Onizuka M, Kataoka K, Chiba K, Tanaka H, Shiraishi Y, Aoki K, Sanada M, Itonaga H, Kanda Y, Miyazaki Y, Makishima H, Miyano S, Ogawa S, 58th ASH Annual Meeting & Exposition, San Diego, 2016/12/3, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 分子プロファイリングに基づく骨髄異形性症候群移植患者の予後予測モデルの構築, 吉里哲一, 日本血液学会公開シンポジウム, パシフィコ横浜, 2016/10/15, 国内.

(4) 特許出願

公開対象なし