

2022年 2月 9日

新聞社  
支社 御中

上武大学副学長 林 泰秀

## 小児急性骨髄性白血病の新たなバイオマーカーの同定

### 概要

上武大学医学生理学研究所の林泰秀副所長(上武大学副学長), 群馬県立小児医療センター血液腫瘍科の大和玄季部長, 国立成育医療研究センター研究所周産期病態研究部胎児発育研究室の河合智子室長, 横浜市立大学大学院発生成育小児医療学の柴徳生講師らは, 日本小児がん研究グループ(JCCG)の日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)の臨床試験による治療を受けた急性骨髄性白血病 (Acute myeloid leukemia; AML) の小児患者で DNA メチル化\*1解析を行い, その成果を報告しました。

AML は血液の中に存在する白血球という細胞ががん化する血液がんの一種です。これまでの研究により、小児 AML では *RUNX1-RUNX1T1* 融合遺伝子や、*FLT3-ITD* 遺伝子変異などの予後因子\*2が見つかっていました。しかしながら、一部の症例では予後因子がわかっていませんでした。本研究グループは 64 人の小児 AML 患者のがん細胞の DNA メチル化解析を行いました。DNA メチル化は遺伝子発現の制御に関わっており、様々ながんの発症や予後に関与しているとされています。

解析の結果、小児 AML の DNA メチル化パターンは AML の遺伝子異常との関連性が強いことがわかりました。また、特定の領域で DNA 高メチル化を示す AML は低メチル化を示す AML と比較して、非常に予後が不良であることを発見しました。さらに、予後不良因子とされてきた *FLT3-ITD* 遺伝子変異を持つ小児 AML 患者において、DNA メチル化パターンから高精度に予後を予測できることを見出しました。また、小児 AML 患者ではこれまで *PRDM16* 遺伝子や *MECOM* 遺伝子の高発現が予後不良に関連していますが、これらの異常と関連する DNA メチル化パターンを同定し、そのメカニズムを解明しました。

今回の結果をもとに、DNA メチル化に基づいた疾患の悪性度を正確に評価して適切な強さの治療を行うことで(層別化治療\*3)、骨髄移植の不要な患者を見出し、小児 AML 全体の治療成績の向上や副作用の軽減が期待されます。

本研究成果は、米国血液学会 (American Society of Hematology) 発行の科学誌『Blood advances』に掲載されます。

オンライン版 : <https://ashpublications.org/bloodadvances/article/doi/10.1182/bloodadvances.2021005381/>

#### 研究に関するお問い合わせ :

上武大学医学生理学研究所 副所長(上武大学副学長) 林 泰秀  
TEL: 0270-32-1011, FAX: 0270-32-1126, E-mail: [hayashiy@jobu.ac.jp](mailto:hayashiy@jobu.ac.jp),  
または群馬県立小児医療センター 血液腫瘍科部長 大和 玄季  
TEL: 0279-52-3551, FAX: 0279-52-7333, E-mail: [genki5915@hotmail.co.jp](mailto:genki5915@hotmail.co.jp)

#### 取材に関するお問い合わせ :

学校法人学文館上武大学  
法人本部 〒370-1393 群馬県高崎市新町 270-1  
TEL : 0274-42-1183 FAX : 0274-42-5202

**【ポイント】**

- ・小児 AML のなかに、特定の領域の DNA 高メチル化群が存在することを明らかにし、同領域の低メチル化群の AML と比べて予後が不良であることを発見しました。
- ・ *FLT3-ITD* 遺伝子変異を持つ患者の予後を DNA メチル化パターンから分類することができました。
- ・ 本研究成果に基づき DNA メチル化に基づく層別化治療を開発することで、今後の治療成績の向上が期待されます。
- ・ メチル化の機序の解明を通じて新規治療薬の開発を目指すことが期待されます。

**【研究の背景】**

AML は血液のがんである白血病の一種です。これまでの研究により、AML では予後良好とされる *RUNX1-RUNX1T1*、*CBFB-MYH11* といった融合遺伝子や、予後不良とされる *FLT3-ITD* 遺伝子変異などが見つかっています。本邦では小児 AML に対して、このような予後因子や、治療反応性を参考にした層別化治療が行われており、全国で同様の治療が行われています。長期生存率も 60-70%程度まで上昇してきていますが、残念ながら 40%近くの患者さんは再発をし、全体の 30%以上の方が亡くなってしまいう予後不良な疾患です。

近年の遺伝子解析技術の進歩に伴い、多数の新規融合遺伝子や遺伝子変異がみつかっていますが、小児 AML の一部の症例では融合遺伝子や遺伝子変異のような予後因子が見つからず、未だに適切な層別化治療が受けられていない症例が存在していると考えられています。そのため、予後の予測に役立つ新たなバイオマーカーが必要とされています。

**【研究の方法と結果】**

本研究グループは、小児 AML における DNA メチル化の意義や、予後因子としての役割など、明らかにされていない問題を解決するために、64 例の AML 患者で DNA メチル化解析を行いました。解析にはイルミナ社の Infinium MethylationEPIC BeadChip という解析キットを使用しました。その結果、DNA メチル化パターンから 64 例を 4 つのグループに分類することができ、それぞれのグループが AML の特徴的な融合遺伝子や遺伝子変異と強い関連を持つことがわかりました (図 1)。また、4 つのグループのうち、DNA メチル化パターンから高メチル化群に分類された患者の 5 年全生存率<sup>\*4</sup>は 29%と、低メチル化群の 72%と比較して明らかに予後不良であることが発見されました (図 2)。

次に *FLT3-ITD* 遺伝子変異を持つ患者と持たない患者で差のある DNA メチル化パターンから、*FLT3-ITD* 患者 15 名の予後を解析しました。その結果、予後不良である *FLT3-ITD* 患者 (クラスター A と定義) と予後良好な *FLT3-ITD* 患者 (クラスター B または C と定義) に分類することができました。クラスター A の *FLT3-ITD* 患者は 5 年全生存率 13%であったのに対して、クラスター B または C は 100%と有意な差を認めました。

また、AML ではこれまでの研究で *PRDM16* 遺伝子の高発現や *MECOM* 遺伝子の高発現が予後不良とされていますが、これらの発現と DNA メチル化パターンの関係性についても解析を行いました。その結果、これらの遺伝子の高発現と低発現について、DNA メチル化パターンから予測可能であることがわかりました。

DNA メチル化解析に加えて、転写因子結合部位解析<sup>\*5</sup>やクロマチンアクセス性<sup>\*6</sup>の解析を行ったところ、これらの DNA メチル化領域が遺伝子の発現に重要な領域であることがわかりました。なお、本研究の結果に関しては、海外における小児 AML を対象とした大規模研究の公開データを利用して、その再現性<sup>\*7</sup>を示すことができました。

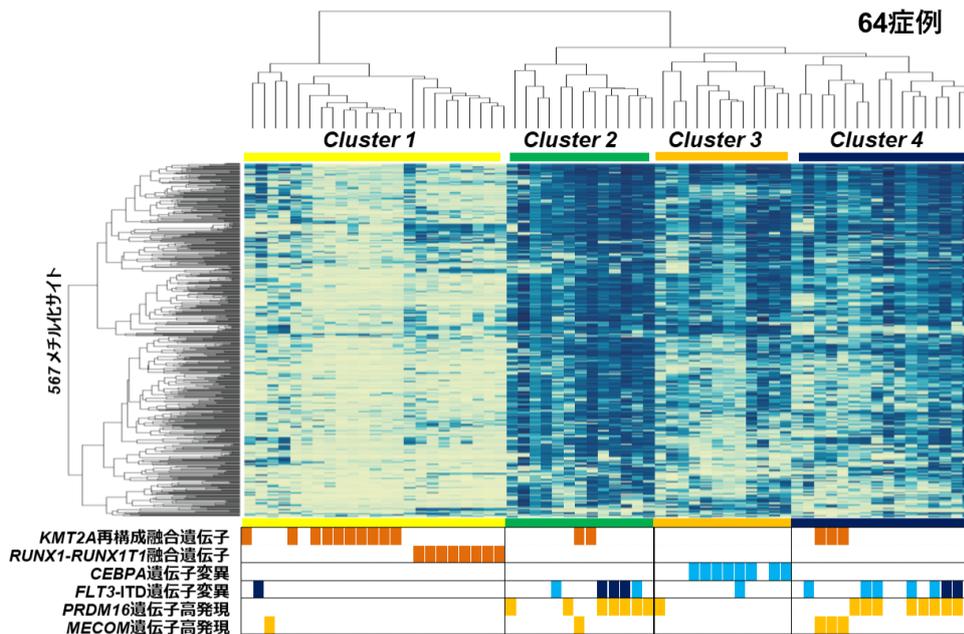


図1. DNA メチル化分類と遺伝子異常の関係

DNA メチル化分類で小児 AML が4つのクラスター(グループ)に分類された。

4つのクラスターはそれぞれ *KMT2A* 再構成や *RUNX1-RUNX1T1* 融合遺伝子と関連の深いクラスター1、*CEBPA* 遺伝子変異と関連の深いクラスター3、*FLT3-ITD* 遺伝子変異や *PRDM16* 遺伝子高発現と関連の深いクラスター2、4に分けられた。

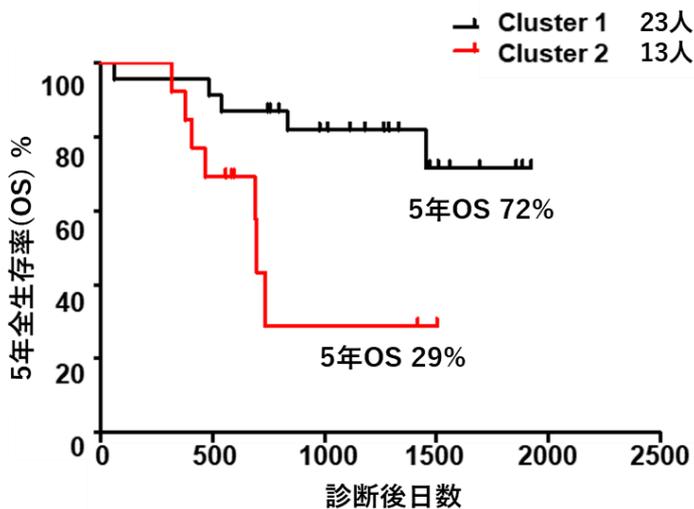


図2. DNA メチル化状態による生存率の比較

図1で分類された高メチル化のクラスター2は低メチル化のクラスター1よりも統計学的に5年全生存率が低いことが示された。

**【研究成果の意義と今後の展望】**

本研究の成果として、予後因子の見つからない小児 AML 患者に対して DNA メチル化パターンが予後予測に有用である可能性が示されました。DNA メチル化を小児 AML の治療層別化に役立てることで、今後の治療成績の向上が期待されます。

## 【論文情報】

掲載誌：Blood Advances 2022 Feb (in press) 10:bloodadvances.2021005381.

論文タイトル：Genome-wide DNA Methylation Analysis in Pediatric Acute Myeloid Leukemia

著者：Yamato G, Kawai T, Shiba N, Ikeda J, Hara Y, Ohki K, Tsujimoto SI, Kaburagi T, Yoshida K, Shiraishi Y, Miyano S, Kiyokawa N, Tomizawa D, Shimada A, Sotomatsu M, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Horibe K, Ogawa S, Hata K, Hayashi Y.

(和訳)

掲載誌：Blood advances 誌 2022年2月予定 bloodadvances.2021005381.

論文タイトル：小児急性骨髄性白血病におけるゲノムワイド DNA メチル化解析

著者：大和 玄季、河合 智子、柴 徳生、池田 順治、原 勇介、大木 健太郎、辻本 信一、鏑木 多映子、吉田 健一、白石 友一、宮野 悟、清河 信敬、富澤 大輔、嶋田 明、外松 学、荒川 浩一、足立 壮一、多賀 崇、堀部 敬三、小川 誠司、秦 健一郎、林 泰秀

## 【用語解説】

※1 DNA メチル化：DNA の特定の部位にメチル基が結合する反応。一般的に遺伝子のプロモーター領域の CpG アイランドにおけるシトシンメチル化が起これば、その遺伝子の発現が低下することが知られている。

※2 予後因子：治療後、その病気の状態がどうなるかを判断するための因子で、遺伝子異常の有無などが含まれる。

※3 層別化治療：予後因子に基づいて患者を分類し、それぞれのリスクに応じた最適と思われる治療を行うこと。

※4 全生存率：診断されてから一定の期間が経過した後に生存している人の割合。

※5 転写因子結合部位解析：転写因子が特異的な DNA 配列を認識して結合する。この結合する DNA 領域は転写因子結合部位とよばれ、解析ソフトを用いて転写因子結合部位の探索を行うことを指す。

※6 クロマチンアクセス性：クロマチンとは真核細胞内に存在する DNA とタンパク質の複合体のことを表す。クロマチンの機能は細胞核内に DNA を効率的に小さく詰め込み、DNA の構造・配列を保護することである。このクロマチン構造が密に詰まっているか(転写活性を示さない)、ゆるく詰まっているか(転写活性を示しやすい)の評価をクロマチンアクセス性と表現する。

※7 再現性：所定の条件や手順の下で、同じ事象が繰り返し起こったり、観察されたりすること。