

## 「エピゲノム多様性に着眼した白血病の病態解明と患者層別化」

国立大学法人京都大学・大学院医学研究科・腫瘍生物学講座 助教

越智 陽太郎

### 要旨

急性骨髄性白血病(AML)は症例間で様々な臨床所見と遺伝子変異を呈する多様性の高い造血器腫瘍である。AMLの遺伝子変異については、次世代シーケンサーを用いた大規模ゲノム解析によって全容が明らかになったが、大規模な患者臨床検体を用いたエピゲノム解析はこれまでにない。そのため、AMLにおけるエピゲノムの全容、特にエピゲノムがAMLの多様性にどのように・どれほど寄与しているか、不明な点が多く残されている。

こうした背景より、本研究ではAML患者1,000例以上の臨床検体を収集し、遺伝子変異解析、トランスクリプトーム解析、エピゲノム解析を実施した。エピゲノムのプロファイルによって、AML症例は10以上のサブタイプに分類可能であった。AMLの標準的な分類法であるWHO分類と比較したところ、いくつかのサブタイプはエピゲノム解析によってのみ同定可能であった。これらのサブタイプは、固有の臨床所見や遺伝子変異パターンを呈しており、生物学的にも異なる腫瘍サブタイプであると考えられた。以上より、大規模患者検体を用いたエピゲノム解析を通じて、AMLの病態解明と層別化に資する新規の知見を得た。

### 背景・目的

癌は遺伝子変異より生じる疾患であるが、癌の表現型にはゲノム変異以外にエピゲノム変化が干渉し、多様性をもたらしている。エピゲノム解析をゲノム解析と組み合わせることによって、癌の多様性をこれまで以上に理解できるようになることが期待される。しかし、癌のエピゲノム解析は大規模な研究が十分に行われておらず、不明な点が多い。

本研究では、大規模AML患者検体において網羅的エピゲノム解析を実施し、癌の表現型を高精度に予測するエピゲノム分子分類を確立し、AMLの病態理解と層別化治療の開発に資することを目的とする。

### 方法

日本国内およびスウェーデンのバイオバンクより1,000例以上のAML患者検体を収集した。臨床情報の収集に加え、ターゲットシーケンスによる変異解析、RNAシーケンスによるトランスクリプトーム解析、ATACシーケンスによるエピゲノム解析を行った<sup>1</sup>。

バイオインフォマティクス解析には、東京大学医科学研究所のスーパーコンピュータシステムSHIROKANEを使用した。

## 結果

まず、ターゲットシーケンスによって AML の遺伝子変異解析を行った。遺伝子変異、構造異常、コピー数異常を網羅的に解析し、AML のゲノム異常の全容を示した。高頻度に認められた遺伝子変異は、AML のドライバー異常として既知の *NPM1*、*DNMT3A*、*FLT3* 変異などであった。また、*PML::RARA*、*RUNX1::RUNX1T1*、*CBFB::MYH11* など、AML のサブタイプを特徴づける融合遺伝子を高感度に検出可能であった<sup>2,3</sup>。

続いて、ATAC-seq によってゲノム上の制御領域を約 18 万箇所同定した。うち約 70% は正常血液細胞には認められず、AML データセットのみで同定可能であった。また、一部の領域は遺伝子発現と強い相関が認められ、エンハンサーであると考えられた。

制御領域上の ATAC-seq シグナルによってクラスタリング解析を行ったところ、AML は大きく 10 群以上のエピゲノムのサブタイプに分類可能であった。各々のサブタイプはそれぞれ固有の臨床病型と遺伝子変異パターンを示すことから、生物学的に異なるサブタイプを同定できたものと考えられた。サブタイプの中には既存の AML の分類では定義されない新規のサブタイプが含まれていた。

一例として、*NPM1* 変異陽性 AML は WHO および ICC 分類では独立した疾患カテゴリとされているが、本研究におけるエピゲノム解析では 4 群のサブタイプに分類された。ATAC-seq を用いて各サブタイプの分化度の推定を行ったところ、未分化型と成熟型に大きく大別された。また、ATAC-seq を用いた転写因子活性の推定により、未分化型の AML は正常造血幹細胞に類似した転写因子制御が、分化型の AML は成熟骨髄球に類似した転写因子制御が、それぞれなされていることが分かった。年齢、白血球数、白血病細胞の形態、予後において各群が異なる特徴を呈することから、将来の層別化治療においてエピゲノムによるサブタイプ分類が有用であると考えられた。

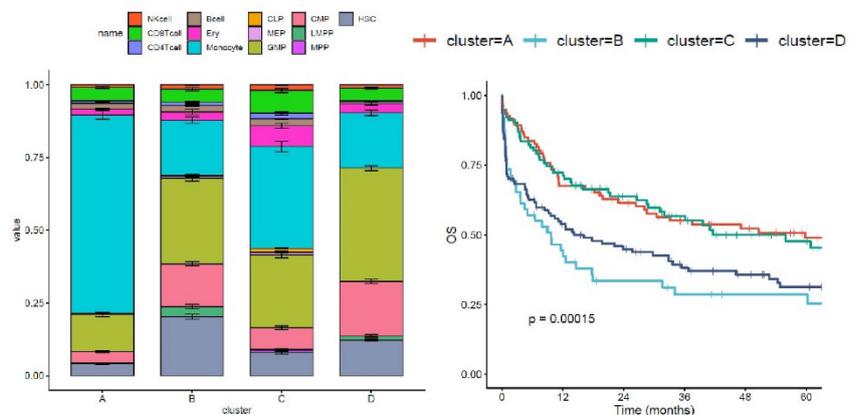


図1. *NPM1*変異AMLの層別化と全生存率

## 考察

本研究では、これまでに類を見ない大規模なエピゲノム解析を AML において実施した。単一細胞種において最大規模のクロマチン解析データセットとして、癌のみならず生物学領域における貴重なリソースとなることが期待される。また、AML においては本データセットを用いて新たな分子分類を確立可能であったことから、今後の診断技術としての有用性が示唆された。

今後の展開としては、エピゲノム分類を簡便な検査法によって高精度に予測できるプラットフォームの構築や、薬剤感受性予測による層別化治療の可能性探求など、臨床応用に向けた取り組みを続けていく。

## 共同研究者

--

## 引用論文

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. Buenrostro, J. D., Giresi, P. G., Zaba, L. C., Chang, H. Y. &amp; Greenleaf, W. J. Transposition of native chromatin for fast and sensitive epigenomic profiling of open chromatin, DNA-binding proteins and nucleosome position. <i>Nat. Methods</i> 10, 1213–1218 (2013).</li><li>2. Arber, D. A. et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. <i>Blood</i> 140, 1200–1228 (2022).</li><li>3. Khoury, J. et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. <i>Leukemia</i> 36, 1703–1719 (2022).</li></ol> |
|---|

## 助成研究に関連した発表論文

該当なし
------