

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	酒 井 均
論文審査担当者	主 査 中 沢 洋 三 副 査 伊 藤 研 一 ・ 宇 佐 美 真 一
<p>論 文 題 目</p> <p>A novel genetic and morphologic phenotype of <i>ARID2</i>-mediated myelodysplasia (<i>ARID2</i>異常を伴う骨髄異形成症候群の新規病型の解析)</p>	
<p>(論文の内容の要旨)</p> <p>〔背景と目的〕 骨髄異形成症候群 (MDS) は不均一な疾患群であり、その背景には多数の遺伝子異常とその組み合わせの多様性が知られ、これらによって形態的变化、臨床像、二次性白血病への進行速度が規定される。次世代シーケンスと SNP-A により、体細胞変異の全体像の把握が進み、病理像を形成するそれぞれの変異の役割が解明されてきた。<i>ARID2</i> 遺伝子は 12 番染色体 q12 に存在し、その蛋白は SWI/SNF 複合体の一部を形成し、クロマチンリモデリングに関与している。SWI/SNF に関連する遺伝子のうち、<i>ARID2</i> の変異又は欠失は様々な固形腫瘍で検出されている。これらの報告は <i>ARID2</i> が様々な腫瘍で癌抑制遺伝子として機能していることを示唆している。血液腫瘍では SWI/SNF-A と SWI/SNF-B の主要構成分子である <i>BRG1</i> は急性骨髄性白血病に必須の役割を担っていることが報告されている。加えて、SWI/SNF-A を構成している <i>ARID1A</i> と <i>ARID1B</i> の変異が急性前骨髄球性白血病で報告されており、<i>ARID1B</i> の欠失が分化を阻害していることを示している。今回、骨髄系腫瘍での <i>ARID2</i> 遺伝子異常の役割について検討した。</p> <p>〔対象および方法〕 対象は骨髄系腫瘍患者 1473 例 (MDS455 例、骨髄異形成／骨髄増殖性腫瘍 201 例、骨髄増殖性腫瘍 56 例、二次性急性骨髄性白血病 221 例、急性骨髄性白血病 540 例) で骨髄液又は末梢血のサンプルを用いた。生殖細胞系列の細胞として CD3 陽性細胞を免疫学的に抽出してコントロールとした。1473 例中、1080 例に対して SNP-A を用いて染色体の構造異常を検出した。残りの 393 例については全エクソンシーケンスを行い、コントロールとの比較を行って体細胞変異の同定を行った。変異の確認のため <i>ARID2</i> 領域のサンガーシーケンスを行った。また、変異アレルの頻度の確認のため、<i>ARID2</i> 領域のアンプリコンディープシーケンスを行った。<i>ARID2</i> の発現解析のため定量 RT-PCR を行った。</p> <p>〔結果〕 全エクソンシーケンスの結果から、<i>ARID2</i> 変異は 6 症例 (MDS2 例、骨髄異形成／骨髄増殖性腫瘍 1 例、骨髄増殖性腫瘍 1 例、急性骨髄性白血病 2 例) に認められた。6 例中 5 例 (83%) はナンセンス変異又はフレームシフト変異であり、<i>ARID2</i> の機能喪失が腫瘍形成に寄与していることを示唆していた。アンプリコンシーケンスと SNP-A による分析によると、全てヘテロ接合であった。腫瘍細胞中の <i>ARID2</i> のアレル頻度は高く (27-48%、median=43%)、このことは <i>ARID2</i> 変異が比較的初期の変異であることを示している。SNP-A による <i>ARID2</i> 部位の核型分析を行ったところ、8 例に <i>ARID2</i> の遺伝子座の欠失が検出された (MDS 5 例、二次性急性骨髄性白血病 1 例、急性骨髄性白血病 2 例)。一方でこの領域の増幅は一例も検出されなかった。定量 RT-PCR による <i>ARID2</i> の発現解析では <i>ARID2</i> 欠失を持つと <i>ARID2</i> 発現量が低いことが示され、ハプロ不全を示唆していると考えられた。全例を合わせると <i>ARID2</i> 異常は 1%未満であった (1473 例中 14 例)。併存する遺伝子異常として頻度が最も高いものは、ヒストン修飾に関連する <i>EZH2</i> と <i>JARID2</i> であった (43%)。<i>ARID2</i> 異常を持つ 5 例について、ほとんどの場合、<i>ARID2</i> 異常のクローンサイズは併存する遺伝子異常のクローンサイズより大きかった。MDS 症例と wild type において Oncomine のデータを用いて発現を比較したところ、<i>ARID2</i> の発現は MDS で有意に低下していた ($P=0.02$)。さらに、<i>ARID2</i> 変異又は欠失を持つ 8 症例について形態学的な検討をおこなった。4 例ずつが顆粒球系と赤芽球系の異形成を示していたが、巨核球の異形成は 8 例すべてに認められ、うち 7 例は hypolobation</p>	

(低分葉化)を示していた。*ARID2*異常を持たないMDS311例では41.9%に顆粒球系の、65.0%に赤芽球系の異形成を示し、巨核球の異形成は51.5%に認めた。巨核球の異形成の発生頻度は、*ARID2*異常を持つ場合と持たない場合で有意差を認めた($P=0.0078$)。これらのことから*ARID2*異常は巨核球系の異形成と関連があることが示唆された。

[考察] クローンサイズの違いからは、*ARID2*の異常はしばしば骨髄異形成の初期の段階で獲得されると考えられた。*ARID2*欠失は巨核球の低分葉化という表現型を示すと考えられた。遺伝的な欠損に加えてエピジェネティックに*ARID2*欠損があってもこれら形態異常が起きる可能性がある。*ARID2*はSWI/SNF-Bのサブユニットをコードしており、クロマチンリモデリングを行って、ヒストン修飾酵素とともに、細胞の分化に関連する遺伝子の発現を調節している。ヒストン修飾やDNAリモデリングの様々なパターンでの遺伝子発現のプロファイルを確認することで、どの遺伝子がターゲットになって、MDS形成に相乗的に関与しているかを解明することができるかもしれない。

[結論] MDSの原因遺伝子として新たに*ARID2*を同定した。*ARID2*の機能低下が形態異常にも関与していることを示した。