

No.	25-2135	
Project Title	CSF3R変異型に基づく骨髓増殖性腫瘍の臨床的・分子学的特徴の探索	
Principal Investigator	Nagisa Oshima (Chiba University Hospital・Assistant professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	YAUSHITO Nannya (The Institute Of Medical Science, The University Of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	李 千尋 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・医員)
	Project Member (s)	横山 和明 (附属病院 血液腫瘍内科・准教授)
	Project Member (s)	和泉 真太郎 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・医員)
	Project Member (s)	松井 慎一郎 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・医員)
	Project Member (s)	石井 改 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・医員)
	Project Member (s)	塚本 祥吉 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・助教)
	Project Member (s)	竹田 勇輔 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・助教)
	Project Member (s)	三村 尚也 (千葉大学医学部附属病院 輸血・細胞療法部・講師)
	Project Member (s)	堺田 恵美子 (千葉大学医学部附属病院 血液内科・准教授)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

共同研究報告 (年次終了)

骨髄増殖性腫瘍における *CSF3R* 各変異型と共存変異、表現型や遺伝子発現の関係の解析

申請者は、骨髄増殖性腫瘍(MPN)を含む血液がん 13000 症例から、*CSF3R* 変異を有し臨床情報が取得できた 84 例について、各症例の病型やその移行・急性転化の過程で起こる遺伝子変異とその組み合わせや、mRNA の発現変化を経時的に調べてきた。*CSF3R* 変異はアミノ酸 T618I 周囲の機能獲得型変異(53 例、T618I 群)と、N 末端 truncating 変異(31 例、nonT618I 群)に分けられ、T618I 群に CNL を含む MPN が 17 例と多く含まれ、共存する遺伝子変異も両群で異なることが判明した(図 A)。特に T618I 群では *CEBPA* N 末端 truncating 変異が特徴的に共存し、予後良好急性骨髄性白血病(AML)で高頻度に認められる C 末端 bZIP ドメイン単独の変異症例は認められなかった。また T618I 群では好中球数が著明に増多し(図 B)、臨床像に差があり、RNA シーケンスの次元削減解析、GSEA の結果も 2 群で明確な差が認められた(図 C、D)。マウス血液腫瘍細胞株である BaF3 に *Cebpa* 変異(N 末端 truncating 変異と C 末端 bZIP ドメイン変異)と *Csf3r* 変異(T618I 変異、N 末端 truncating 変異)を導入し、それぞれの変異の組み合わせによる細胞形態変化や、表面抗原、RNA シーケンスによる分化能変化の観察を開始した。しかし、マウスの *Cebpa* はヒトと構造・機能ともに相同性が非常に高い一方で、*Csf3r* はヒトと配列相同性があるものの、機能的には相同性が低いことが判明したため、その後はヒトの両遺伝子変異を構築し、同様に細胞株に変異を導入し、細胞形態や増殖能の観察を行った。結果、ヒトの *CSF3R* と *CEBPA* 遺伝子導入を行なった BaF3

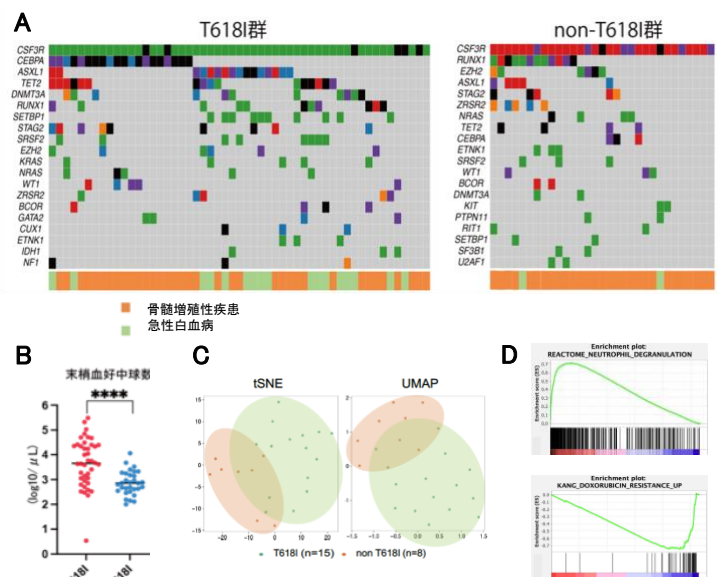


図 A. *CSF3R* 変異を有する症例の、疾患と共存する遺伝子変異の組み合わせ
図 B. *CSF3R* 変異 MPN における T618I 群と nonT618I 群の好中球数の比較。
図 C. T618I 群と nonT618I 群の遺伝子発現変動パターンの tSNE 解析。
緑:T618I 群、橙:nonT618I 群
図 D. (上)白血球脱顆粒に関わる遺伝子群(NES 2.72、FDRq 0.0)、(下)ドキシ
ルビシン耐性に関わる遺伝子群(NES -2.38、FDRq 0.0)の GSEA 解析結果。

細胞は、変異導入細胞は IL-3 依存性を喪失しており(図 E)、*CSF3R* T618I 変異と *CEBPA* N 末端変異が共存する AML 疾患類似モデルとして確立できたことが示唆された。この変異導入細胞株各種の RNA シーケンスを実施し、遺伝子発現変化を解析している。

また、*CEBPA* の N 末端 truncating 変異では短縮型 *CEBPA*(p30)の発現が維持されるとの報告から(Pabst T, et al. *Nat Gen.* 2001)、通常型 *CEBPA*(p42)と p30 を用いた ChIP シーケンスを行い、各 *CSF3R* 変異蛋白併存下での DNA 結合部位の変化を調べ、特異的な変異の組み合わせが生じる原因を探索している。また、前述の GSEA 解析の結果、脱顆粒好中球形成やドキシルビシン抵抗性に関する遺伝子群が両群で有意な遺伝子発現変化を認めており(図 D)、薬剤感受性プラットフォームによる試験も行い、それぞれの変異共存型細胞に有効な薬剤の探索を行うことも検討している。

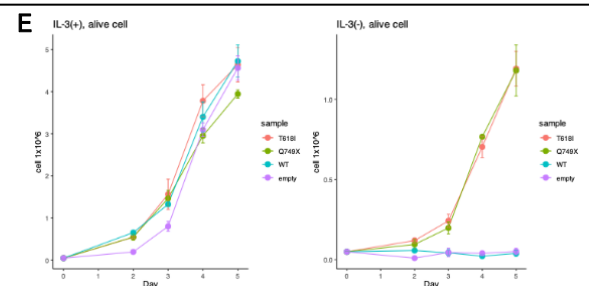


図 E. *CSF3R* 変異導入細胞の増殖曲線(左)IL-3 添加あり、(右)IL-3 添加なし