

京都大学	博士（医学）	氏名	窪田博仁
論文題目	RNA-seq-based miRNA signature as an independent predictor of relapse in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia (RNA-seqに基づくmiRNAシグネチャーは小児B細胞性急性リンパ性白血病患者の独立した再発予測因子となる)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】 小児B細胞前駆体急性リンパ性白血病（BCP-ALL）において、微小残存病変などの臨床的予後因子とともに、多様な遺伝子異常が治療層別化に用いられ治療成績は向上してきた。しかし、診断時に低リスク群と分類された患者が依然として再発の大半を占めており、再発のリスクが高い患者を予測するための新たな戦略が必要である。miRNAは22塩基前後のnon-coding RNAであり、多くの腫瘍でmiRNAの発現異常が認められ、予後予測に有用なmiRNAが様々な腫瘍で近年報告されているが、小児BCP-ALLにおいてmiRNAの臨床的意義は未だ確立されていない。本研究では小児BCP-ALL症例を対象に統合的なmiRNA発現解析を行い、小児BCP-ALLのmiRNA発現プロファイルを明らかにし、その臨床的意義を検討した。</p> <p>【対象と方法】 対象患者は再発患者を多く含むコホートとしてTARGET (Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments initiative) 公開データベースのmiRNAシーケンス(miRNA-seq)、mRNAシーケンス(mRNA-seq)の両方のデータを有する患者(111例中83例が再発)と、日本のコホート(69例中34例再発)を対象にし、その初発時検体と一部の患者でペアとなる再発時検体を解析した。日本のコホートに対して、患者骨髄または末梢血サンプルから抽出したmiRNA、mRNAを用いてmiRNA-seq、mRNA-seq解析を行い、DNAを用いて全エクソーム解析を行った。</p> <p>【結果】 TARGETコホートのmiRNA発現データのクラスタリング解析により、miRNAの低発現を特徴とする一群(miR-low cluster; MLC)が同定され、MLCはBCP-ALLの既知の遺伝的サブグループとは関連していなかった。MLC群の患者は有意に無イベント生存率が低く(中央値21ヵ月 vs 33ヵ月, Log-rank test $P = 3 \times 10^{-5}$)、低リスク群であるhyperdiploidの症例においても同様であった。Lasso回帰によりMLCを特徴づけるmiRNAからMLC scoreを作成し、日本のコホートにおいてもMLC scoreが高いMLC様の患者群は無イベント生存率、全生存率ともに有意に低いことを確認した。さらに、診断時にMLCでない患者の一部が再発時にMLC様のmiRNAの発現プロファイルを獲得した(n=9/23, Fisher's exact test、$P = 0.039$)。遺伝子変異、コピー数解析、メチル化解析のデータからはMLCを特徴づける異常は認めず、MLCはmiRNA発現解析によりはじめて同定されることが示唆された。miRNAとmRNAの統合的な解析の結果、MLCにおいて発現低下したmiRNAにより、MYCターゲット遺伝子群、酸化的リン酸化シグナルなど発がん性シグナル伝達経路の遺伝子群の発現が亢進することが示唆された。また、MLCはmRNAのintron retentionの減少、DICER1低発現といった特徴があり、これらがMLCの病態に関連することが示唆された。</p> <p>【結語】 RNA-seqに基づくmiRNAの統合的解析によりBCP-ALLの従来リスク因子とは独立した新規の予後予測因子を同定した。新規のmiRNAシグネチャーを用いることでリスク層別化を改善し、さらなる治療成績の向上が期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、小児B細胞性急性リンパ性白血病患者(BCP-ALL)におけるmiRNAの発現プロファイルを明らかにし、予後予測に有用なバイオマーカーや治療標的を同定することを目的に、再発患者を主としたTARGET ALL公開データベースと日本のコホートの初発時検体のmiRNAシーケンスとmRNAシーケンスの統合的な解析を行った。

まず、TARGET ALLコホートのから特徴的なmiRNA発現プロファイルを持つ一群(miR-low cluster; MLC)を同定し、MLCは既知の遺伝学的サブグループとは関連しておらず、MLC群は有意に無イベント生存率が低かった。Lasso回帰によりMLCを特徴づけるmiRNAからMLC scoreを作成し、日本のコホートにおいてもMLC scoreが高いMLC様の患者群は予後不良であることを確認した。さらに、診断時にMLCでない患者の一部が再発時にMLC様のmiRNAの発現プロファイルを獲得することを示した。統合的な解析からMYCターゲット遺伝子群など発がん性シグナル伝達経路の遺伝子群の発現亢進がMLCの病態に関連することが示唆された。

以上の研究は、小児BCP-ALLの再発を予測する新規のmiRNA発現プロファイルを同定し、miRNA発現を基にした小児BCP-ALLの新規層別化治療、それによる治療成績の向上に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和6年3月7日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。