

コホート研究生体試料のゲノム解析によるクローン性造血の病態解明

吉田健一

国立がん研究センター研究所 がん進展研究分野

【研究の背景】

クローン性造血とは、ドライバー遺伝子変異の獲得などにより造血細胞がクローン性の増殖をきたしている状態であり、年齢とともに頻度が高くなり、血液がんや心血管疾患などの様々な疾患の発症リスクの上昇と関連していることが知られている。クローン性造血は高齢者、特に 75 歳以上になるとほぼ全ての人に出現していると考えられており、造血器腫瘍や心血管疾患などの様々な疾患の発症のリスクの上昇と関連付けられている。一方、クローン性造血から造血器腫瘍の発症にいたるのはごく一部であり、その頻度の低さを考えるとどのような場合に造血器腫瘍へと進展するのかという点については十分に解明されていると言えない。また、クローン性造血の早期発見により造血器腫瘍の発症予測につなげられる可能性があるが、クローン性造血から造血器腫瘍へどのように進展しているかについての理解は十分であるとは言えない。

【目 的】

本研究では大規模コホート研究で保存されている生体試料を活用し、血液検体の遺伝子解析によりクローン性造血を解析する。特に、追跡期間中に造血器腫瘍を発症した症例を中心に解析を行い、検出されたクローン性造血および経時的なクローンの変化と造血器腫瘍の発症との関係についても解析する。これらのデータから造血器腫瘍の発症を予測可能なマーカーとなる遺伝子異常を同定する。また、本研究では通常クローン性造血の解析で使用される末梢血 DNA だけでなく血中遊離 DNA (cfDNA) についても解析を行い、末梢血 DNA と cfDNA を用いた高感度なクローン性造血検出法の開発およびクローン性造血の早期検出による造血器腫瘍の予防を目指す。さらに、血液検体の解析により造血器腫瘍の発症をリアルタイムに予測する手法を開発し、将来的な造血器腫瘍の発症予測や早期治療による予防につなげる。

【方 法】

本研究では、約 30 年にわたって長期フォローアップを行ったコホート研究である多目的コホート(JPHC) 研究において、研究参加時および 5 年後のフォローアップ時に保存された血液試料(末梢血、血漿)のゲノム解析によりクローン性造血を解析する。研究参加時および 5 年後のフォローアップ時に採取・保存されたバフィーコート(末梢血単核球)、血漿検体 1ml から cfDNA を抽出し、造血器腫瘍あるいはクローン性造血で変異が報告されている遺伝子変異および染色体コピー数異常を解析対象として次世代シーケンサーを用いて標的遺伝子シーケンスにより解析を行う。特に、追跡期間中に造血器腫瘍を発症した症例を中心に解析を行い、検出されたクローン性造血とその後の造血器腫瘍などの発症の関係を検討する。また、研究参加時、5 年後調査で 2 回検体が保存されている症例については経時的なクローンの変化や造血器腫瘍の発症との関係についても解析する。これらのデータから cfDNA 解析により造血器腫瘍の発症予測・早期診断につながるマーカーを探索する。

【結 果】

まず、多目的コホートにおける対象症例の確認を行った。研究フォローアップ中に造血器腫瘍を発症した症例が 464 名存在することが確認できており、血漿検体の保存されている症例が 342 症例確認できた。さらに、本研究の実施のための研究計画の変更申請を行い、国立がん研究センターおよび共同研究施設の京都大学で承認が得られた。さらに、微量 cfDNA の抽出および標的遺伝子シーケンスの予備実験を行った。多目的コホート研究で収集された血漿 1ml から cfDNA を抽出したところ、2.5~10.4ng の収量が得られた。約 30 年前に保存された検体であり、cfDNA の抽出を目的に保存された検体ではないことから、採血から保存までの時間が長い症例もあることが想定されたが、ゲノム解析を行うための最低限の量が確保できていると考えられた。条件検討の結果から、実際の検体の解析に進み、1993 年から開始されたコホート II で造血器腫瘍を発症した 196 例を対象に研究を開始した。まず、15 年以内に造血器腫瘍を発症した症例 106 例を選び、稀な病型を除いた 61 症例および同数のコントロール症例の検体の払い出しを行った。現時点でこのうち 72 症例の cfDNA を抽出し、57 症例 (79%) については解析に必要な cfDNA (2ng) が得られた。さらに、造血器腫瘍発症例 22 症例の解析を行った結果、8 症例では研究参加時の検体で一般的にクローン性造血において頻度が高いとされている *DNMT3A*、*TET2*、*ASXL1* などの変異が検出された。特に、骨髄性腫瘍発症例では 9 症例中の 6 症例でクローン性造血が検出された。一方、造血器腫瘍を発症しなかった 24 症例ではクローン性造血は検出されなかった。

【考 察】

cfDNA を用いた遺伝子解析により、造血器腫瘍を 15 年以内に発症した症例では高頻度にクローン性造血を検出することができた。今後、さらに 5 年後調査時の検体の解析や、実際に発症した造血器腫瘍に関する臨床情報や検体を可能な範囲で解析を行うことで、クローン性造血から造血器腫瘍への進展の機序を明らかにする必要がある。また、同一症例から得られた末梢血単核球検体についても解析を行い、cfDNA との比較を行い、どちらがクローン性造血から造血器腫瘍への進展の予測に有用であるか検証する必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により造血器腫瘍を 15 年以内に発症した症例で高頻度にクローン性造血を検出することができたことは、今後臨床的に cfDNA の解析が造血器腫瘍発症の予測に有用である可能性を示している。同定された遺伝子異常と造血器腫瘍への進展のリスクとの関連や、どのような腫瘍の発症が予測できるかなど、今後さらなる検証を進めていきたい。

【参考・引用文献】

1. Yoshida, K. Clonal hematopoiesis in cancer predisposition syndromes. *Int J Hematol.*, 122:351-357 (2025)
2. Shimada, K., Yoshida, K., Suzuki, Y., Iriyama, C., Inoue, Y., Sanada, M., Kataoka, K., Yuge, M., Takagi, Y., Kusumoto, S., Masaki, Y., Ito, T., Inagaki, Y., Okamoto, A., Kuwatsuka, Y., Nakatochi, M., Shimada, S., Miyoshi, H., Shiraishi, Y., Chiba, K., Tanaka, H., Miyano, S., Shiozawa, Y., Nannya, Y., Okabe, A., Kohno, K., Atsuta, Y., Ohshima, K., Nakamura, S., Ogawa, S., Tomita, A., Kiyoi, H.: Frequent genetic alterations in immune checkpoint-related genes in intravascular large B-cell lymphoma. *Blood*, 137: 1491-1502 (2021).