

## (論文博士) (様式 4)

## 学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

氏 名 金山優樹 印

## 主 論 文

*SF3A1* Gene Polymorphism Affects Clinical Features, but not Susceptibility to Myelodysplastic Syndromes

(*SF3A1*遺伝子多型は骨髄異形成症候群の臨床像に影響を与えるが、発症リスクに影響しない。)

## 主論文の要旨

## [背景および目的]

骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndromes: MDS)は、造血幹細胞のクローン性異常が原因であり、不応性血球減少と単一球系から多血球系統の異形成を特徴とする。MDS患者の臨床像は多彩で、急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia: AML)へ移行する場合もある。AMLは骨髄系前駆細胞の分化の異常があり、正常細胞が異常細胞に置き換えられる。*TET2*、*DNMT3A*、*WT1*、*FLT3-ITD*、*CEBPA* や *NPM1*などの遺伝子変異は、MDSやAMLの予後や治療反応性に関与することが明らかになっている。近年実施されたMDS及びAMLに対する全ゲノム解析ではRNAスプライシング関係遺伝子の変異が報告された。

RNA スプライシングとは転写後修飾の一つで、遺伝子を転写したpre-mRNAからイントロンを除去し、エクソンを結合して成熟mRNA を合成する反応である。スプライソソームは、タンパク質とRNAの複合体で、5つ(U1、U2、U4、U5、U6)の核内低分子リボ核酸蛋白質粒子(snRNP)と他の多くの蛋白質で構成され、成熟RNAにする機能を持つ。Serine/arginine-rich splicing factor 2(*SRSF2*)とsplicing factor 3a subunit 1(*SF3A1*)はスプライソソームの構成要素で、RNAプロセシングに関わる。*SRSF2*はSRファミリータンパクに属し、pre-mRNAのsplicing enhancer sequenceに結合し、U1snRNPとU2snRNP両者のpre-mRNAの相互作用に関わる。*SF3A1*は、15S U2 snRNPの活性化に寄与し、3'側スプライス部位の認識に関わる。

*SRSF2*や*SF3A1*の一塩基多型(SNP)は結腸直腸がんや膵臓がん等で検討されてきたが、血液腫瘍の発症リスクとの関連は明らかでなかった。本研究では*SRSF2*と*SF3A1*遺伝子多型がMDS/AMLの臨床像や発症リスクに影響するか検討し、*SRSF2*と*SF3A1*遺伝子のMDS/AMLの役割を明らかにすることを目的とした。

## [方法]

対象はMDS患者99名、AML患者92人と健常者172名とした。MDSはWHO分類(2016)により、AMLはFAB分類(1976)とMRC分類(2010)に従って診断された。本研究は群馬大学医学部病院の臨床研究審査委員会によって承認された。*SRSF2*遺伝子多型(rs237057 G/A/C)と*SF3A1*遺伝子多型(rs2074733 T/C)はPCR-RFLP法によって決定した。遺伝子型頻度の比較には $\chi^2$ 検定を、臨床的特徴や検査値の比較にはt検定と $\chi^2$ 検定を用いた。予後の比較にはKaplan-Meier法とlog-rank検定を用いた。統計解析には、SPSS ver. 26を用いた。P < 0.05を統計学的に有意とした。

## [結果]

対象MDS患者は、99名(男性64名、女性35名)、年齢中央値は65歳(範囲:18~86歳)であった。

MDSの病型は、SLD 36名 (36.4%)、MLD 20名 (20.2%)、RS 6名 (6.1%)、EB-1 12名 (12.1%)、EB-2 11名 (11.1%)、MDS-U 13名 (13.1%)、del (5q) 1名 (1.0%)であった。IPSS-Rリスクカテゴリーでは、Very low 14人 (14.3%)、Low 42人 (42.9%)、Intermediate 27人 (27.6%)、High 8人 (8.2%)、Very high 7人 (7.1%)であった。対象AML患者は、92名 (男性54名、女性38名)、年齢中央値は59歳 (範囲15~86歳)であった。FAB分類では、M0 6名 (6.5%)、M1が14名 (15.2%)、M2が32名 (34.8%)、M3が21名 (22.8%)、M4が12名 (13.0%)、M5が4名 (4.3%)、M6が2名 (2.2%)、M7が1名 (1.1%)であった。

MDSとAML患者の*SRSF2*遺伝子多型及び*SF3A1*遺伝子多型解析では、遺伝子型とアレル頻度ともに健常者と違いはなく、発症リスクとの関連は認めなかった。次に遺伝子多型と臨床像の関係を検討した。まず、*SRSF2*遺伝子多型はAA型とnon-AA型 (AG/GG型)に2群に分けて検討した。MDS患者とAML患者ともに、臨床像や予後に関連は認められなかった。次に、*SF3A1*遺伝子多型はTT型とnon-TT型 (TC型)に2群に分けて検討した。TC型患者はTT型患者と比較して、ヘモグロビン値が高かった (TC型  $10.6 \pm 1.63$  vs TT型  $9.09 \pm 2.19$  g/dL,  $p = 0.022$ )。さらに、TC型患者はTT型患者と比較して染色体異常の頻度が有意に低かった (18.2% vs 53.5%,  $p = 0.027$ )。全生存期間や無白血病生存期間との関連は認めなかった。一方、AML患者においては、*SF3A1*多型遺伝子多型の臨床像や予後との関連は認めなかった。

#### [考察]

近年、MDSとAMLにおいてRNAスプライシング経路の遺伝子変異が報告され、発がんメカニズムとの関連が示唆されている。*SF3A1*は、*SF3B1*とともにU2-snRNA複合体の3'側スプライス部位の認識に関わる。本研究では、*SF3A1* rs2074733遺伝子多型は発症リスクに影響しないが、ヘモグロビン値や染色体異常の頻度の違いがあり、臨床像に影響する可能性が示唆された。

このrs2074733遺伝子多型はイントロン5にあり、*SF3A1*の産生に影響を与える可能性があるが、その生物学的作用は不明である。スプライシング因子の異常発現は、選択的スプライシングを修飾し、エクソンスキッピングやイントロンリテンションを誘導することが知られている。*SF3A1*の発現バランスの異常はスプライスソームの異常な機能を誘発する可能性がある。我々の知る限りでは、*SF3A1*遺伝子変異とMDS患者の臨床的特徴の関連を検討した先行研究はない。*SF3A1*同様に3'側スプライス部位の認識に関わる*SF3B1*遺伝子変異は、MDSの予後が良好で白血病化のリスクが低いことが報告されている。われわれの検討で、MDS症例の*SF3A1* rs2074733遺伝子多型 TT型は、ヘモグロビン値が低く、染色体異常の頻度が高かったため、予後規定因子を同定するためにCox proportional hazard modelを使用した多変量解析を行った。予後に関係するのは、MDSのリスクカテゴリーのIPSS-Rと診断時年齢65歳以上で、*SF3A1* rs2074733遺伝子多型は抽出されなかった。*SF3A1* rs2074733遺伝子多型とすい臓がんの発症リスクの報告はあるが、MDSの臨床像との関連は初めての報告である。しかし、本研究はサンプル数が少なく、より大きなサンプルサイズでの確認が必要である。

#### [結論]

*SRSF2*および*SF3A1*の遺伝子多型はMDSおよびAMLの発症リスクに影響しないが、*SF3A1* 遺伝子多型はMDSの臨床像に影響することが示唆された。