

# 超高感度次世代シーケンスで 若年性骨髄単球性白血病の「微小クローン」を可視化 ～見逃されてきた遺伝子変異が予後不良と強く関連～

## 【本研究のポイント】

- ・若年性骨髄単球性白血病(JMML)は、乳幼児に発症する治療が難しい希少な白血病です。
- ・本研究では、高感度な新しい解析技術を用いて、従来の検査では十分捉えきれなかった、微細な遺伝子変異を、網羅的に検出しました。
- ・その結果、診断時にごく一部の白血病細胞にしか存在しない遺伝子変異であっても、患者さんの病気の進行や治療成績に大きく影響することが分かりました。
- ・本研究の成果は、JMML の重症度をより正確に見極め、治療方針を決める新たな手がかりになると期待されます。

## 【研究概要】

名古屋大学大学院医学系研究科小児科学の高橋 義行 教授、村松 秀城 准教授、佐治木 大知 助教らの研究グループは、エラー修正次世代シーケンス\*<sup>1</sup> と呼ばれる超高感度の遺伝子解析技術を用いて、若年性骨髄単球性白血病 (juvenile myelomonocytic leukemia: JMML) の遺伝子異常を詳細に解析し、複数の遺伝子変異を持つ白血病細胞がわずかでもあると、病気の進行や治療成績と密接に関連していることを明らかにしました。

JMML は主に乳幼児期に発症する、まれで治療が難しい白血病です。およそ 90% の患者では、細胞の分化や増殖を制御する RAS 経路に関わる 5 つの遺伝子 (*PTPN11*, *NF1*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL*) のいずれかに変異が認められます。さらに一部の症例では *SETBP1* や *JAK3* など「セカンドヒット\*<sup>2</sup>」と呼ばれる遺伝子異常が、白血病細胞の増殖や病気の進展に関与することが分かっていました。

エラー修正次世代シーケンスは、解析の過程で生じるエラーを分子バーコードを用いて補正することで、従来の次世代シーケンサーでは区別が難しかった低頻度の遺伝子変異を高い精度で検出できる技術です。この手法により、白血病細胞集団の中で一部の細胞のみが持つ遺伝子異常も、網羅的かつ定量的に解析することが可能となりました。

本研究では、JMML 患者 104 人を対象にエラー修正次世代シーケンス解析を行い、合計 159 個の遺伝子変異を同定しました。そのうち 30 個 (19%) は、白血病細胞集団の中で一部の JMML 細胞のみに認められる低頻度の変異(マイナークローン変異\*<sup>3</sup>)でした。

解析の結果、セカンドヒットの遺伝子変異を持つ患者では、それが白血病細胞の一部にのみ認められるマイナークローン変異であっても、治療成績が良くないことが分かりました。さらに、治療後に再発した一部の症例では、実際に再発と診断される数か月前から、こうした微小な遺伝子変異を捉えることが可能でした。

今回の研究成果により、JMML において重要性が示唆されてきた白血病細胞内の遺伝子異常を、これまで以上に高精度かつ網羅的に評価することが可能となり、診断時の正確なリスク評価や治療戦略の最適化につながることを期待されます。

本研究成果は、2026 年 4 月 7 日付 (日本時間 4 月 7 日 9 時) 英国科学誌より発行されている科学誌『Leukemia』に掲載されました。

## 1. 背景

若年性骨髄単球性白血病 (juvenile myelomonocytic leukemia: JMML) は、主に 5 歳未満の乳幼児に発生する予後の悪い白血病です。日本においては年間 10~20 例程度が発症し、通常の抗がん剤による化学療法では十分な効果が得られないため、根治のためには造血細胞移植が必要とされています。

JMML 患者のおよそ 90% では、細胞の分化や増殖を制御する RAS 経路に関わる 5 つの遺伝子 (*PTPN11*, *NF1*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL*) のいずれかに変異が認められ、これらが JMML 発症の主要な原因と考えられています。さらに一部の JMML 患者では、*SETBP1* や *JAK3* などの遺伝子に追加の変異が認められ、こうした「セカンドヒット」の

遺伝子変異を有する場合、予後が不良であることが知られています。

当科ではこれまでに、特殊な PCR 法である droplet digital PCR (ddPCR) 法を用いて、セカンドヒットのうち特に頻度の高い *SETBP1* p.D868N 変異および *JAK3* p.R657Q 変異を解析してきました。その結果、従来の遺伝子解析技術では見過ごされてきた、白血病細胞集団の中で一部の JMML 細胞のみに認められる低頻度の変異(マイナークローン変異)の存在を明らかにするとともに、これらの変異が不良な予後と関連することを報告しました。

そこで本研究では、解析の過程で生じるエラーを分子バーコードを用いて補正することにより、従来の次世代シーケンサーでは区別が難しかった低頻度の遺伝子変異を高い精度で検出できる「エラー修正次世代シーケンス」を用い、JMML 患者におけるマイナークローン変異を網羅的かつ定量的に解析しました。

## 2. 研究成果

本研究では、エラー修正次世代シーケンスを用いて、JMML 患者 104 人の診断時検体を解析しました。その結果、合計 159 個の遺伝子変異を同定し、そのうち 30 個(19%)は、マイナークローン変異でした(図 1)。これらの変異は、*SETBP1*、*JAK3*、*NF1*、*NRAS* など、JMML の病態に関わる複数の遺伝子で認められました。

解析の結果、セカンドヒットの遺伝子変異を持つ患者では、それがマイナークローン変異であっても、治療成績が良くないことが明らかになりました(図 2)。特に、RAS 経路に関わる遺伝子にセカンドヒットの変異を持つ場合、病気の進行や予後と強く関連していました。

さらに、複数の遺伝子変異を有する患者の診断時検体を用いて、白血病細胞を 1 細胞由来のコロニーとして分離・培養し、それぞれのコロニーを解析するコロニーアッセイ\*4 を行いました。その結果、主要な遺伝子変異はすべてのコロニーに共通して認められる一方で、セカンドヒットの遺伝子変異は一部のコロニーのみに存在し、複数の異なるマイナークローンが共存していることが明らかになりました。また、これらのマイナークローン変異は同一のコロニー内では互いに排他的に存在しており、JMML が複雑なクローン構造を持つ疾患であることが示されました。

加えて、治療前後の検体を用いて、エラー修正次世代シーケンスでの経時的な解析を行ったところ、造血細胞移植後に再発した一部の症例では、実際に再発と診断される数か月前から、再発の徴候を微小な遺伝子変異として捉えることが可能でした(図 3)。

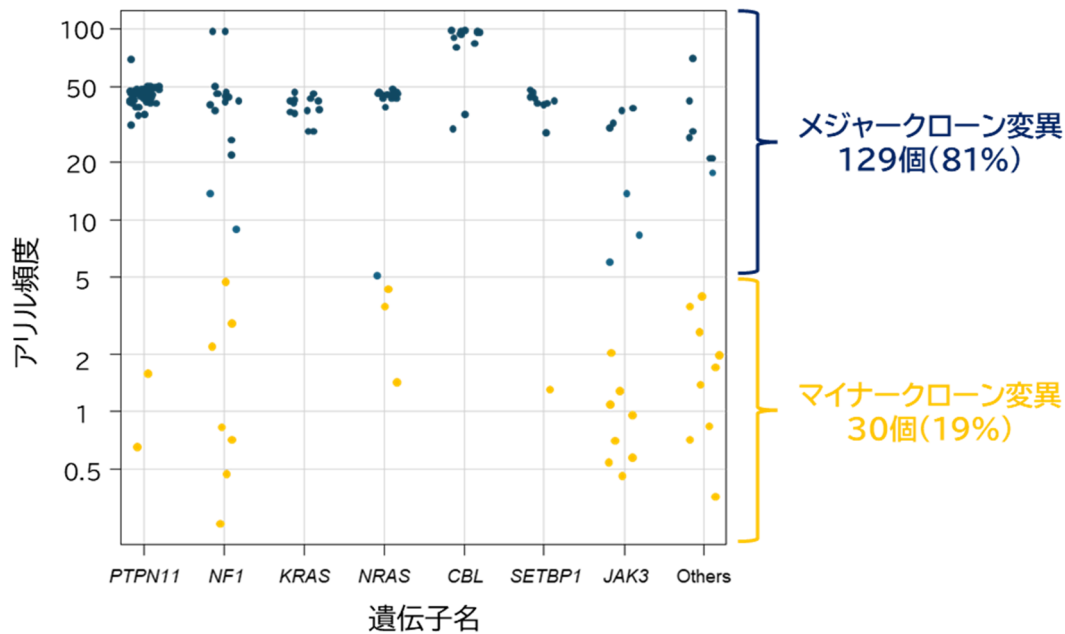
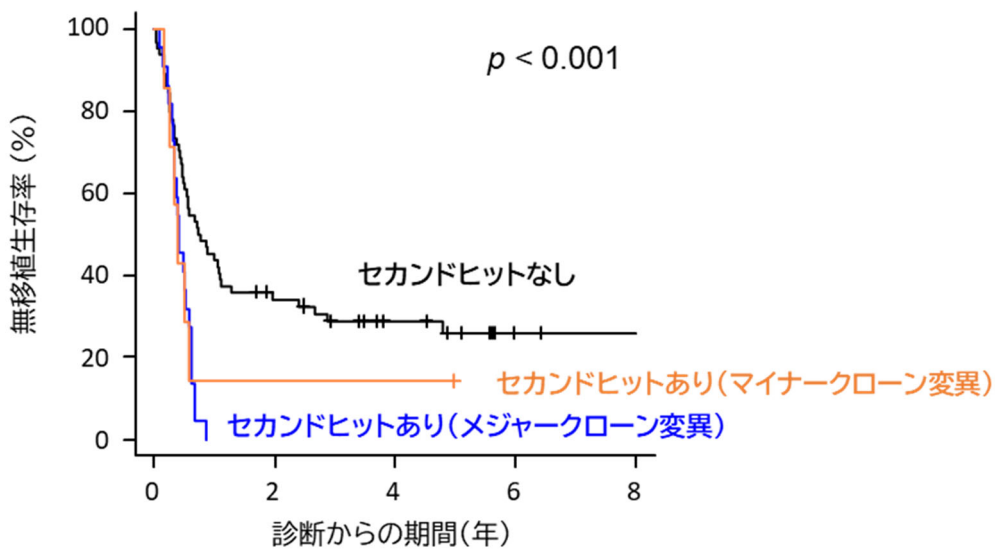


図 1. エラー修正次世代シーケンスにより検出した遺伝子変異

JMML 患者 104 人の診断時検体で、合計 159 個の遺伝子変異を同定しました。そのうち 30 個(19%)は、従来の次世代シーケンサーでは正確に同定することが難しいマイナークローン変異でした。



	Number at risk				
	0	2	4	6	8
Negative group	64	20	11	3	2
Major group	22	0	0	0	0
Minor group	7	1	1	0	0

図 2. セカンドヒット遺伝子変異の有無による生存率の比較

JMML 患者 93 例(ヌーナン症候群患者 11 例を除外)で生存解析を行ったところ、セカンドヒットの遺伝子変異を持つ患者では、それがマイナークローン変異であっても、治療成績が悪化しました。

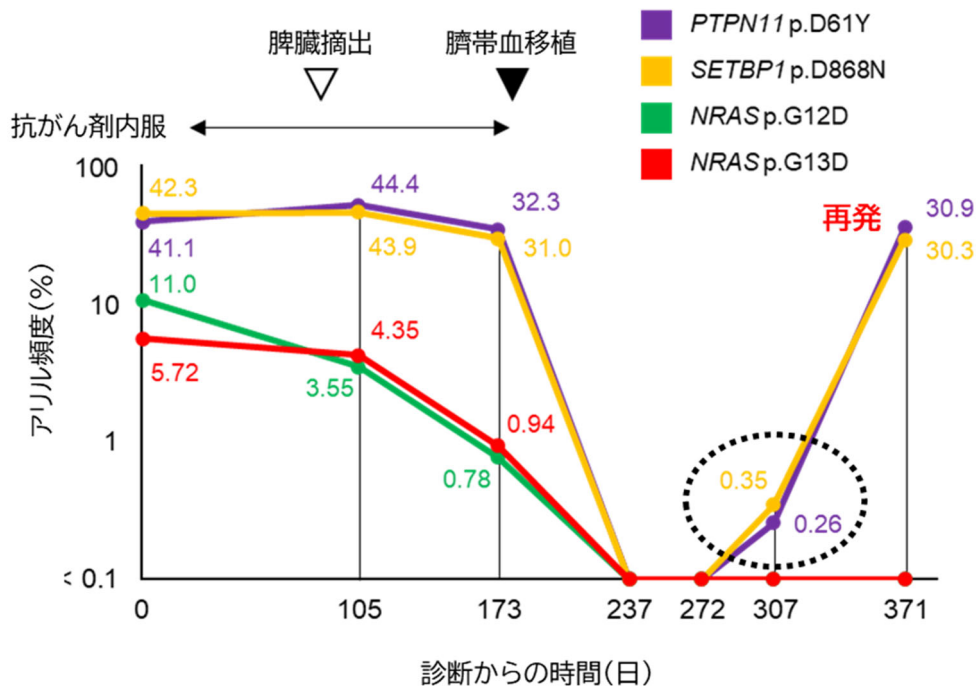


図 3. 複数の遺伝子変異を有する患者の経時的な解析

診断時に *PTPN11* 変異に加えて、*SETBP1* 変異と 2 種類の *NRAS* 変異を有する患者で治療前後のサンプルを用いたエラー修正次世代シーケンス解析を実施しました。臍帯血移植後に 4 種類の遺伝子変異は全て陰性となっていました。再発する 2 か月前に *PTPN11* 変異と *SETBP1* 変異がそれぞれ 0.26%、0.36%のアリル頻度<sup>\*5</sup>で検出されました。

### 3. 今後の展開

本研究により、JMML におけるセカンドヒットの遺伝子変異を、白血病細胞集団内での存在様式も含めて高精度に評価できることが示されました。

今後、エラー修正次世代シーケンスを臨床に応用することで、診断時のリスク評価をより精密に行い、治療強度や造血細胞移植のタイミングを検討する際の重要な判断材料となることが期待されます。また、治療後の経過観察においても、再発の兆候を早期に捉える新たな手法としての発展が期待されます。

### 4. 支援・謝辞

本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) 革新的がん医療実用化研究事業 (課題番号: 22ck0106611h0003、23ck0106855h0001)、日本学術振興会科学研究費助成事業 (課題番号: 21K07771)、および名古屋小児がん基金からの寄附金の支援を受けて実施されました。

#### 【用語説明】

\*1) エラー修正次世代シーケンス: 遺伝子解析の過程で生じる読み取りエラーを分子バーコードにより補正することで、従来の次世代シーケンサーでは正確な検出が難しかった

低頻度の遺伝子変異も、高い精度で検出できる遺伝子解析技術。

\*2) セカンドヒット:白血病の発症に関わる主要な遺伝子変異に加えて、病気の進行や悪化に関与すると考えられる追加の遺伝子変異。

\*3) マイナークローン変異:白血病細胞集団の中で、一部の細胞のみに存在する遺伝子変異。診断時には少数しか存在しないが、病気の進行や治療成績に影響することがある。

\*4) コロニーアッセイ:白血病細胞を 1 細胞由来のコロニーとして分離・培養し、それぞれの細胞集団の遺伝子変異を解析する方法。白血病細胞のクローン構造を詳しく調べることができる。

\*5) アリル頻度:検体中に含まれる遺伝子のうち、特定の遺伝子変異が占める割合。

### 【論文情報】

雑誌名:Leukemia

論文タイトル:Error-corrected Next-generation Sequencing for Profiling the Subclonal Genetic Architecture of Juvenile Myelomonocytic Leukemia

著者:Daichi Sajiki<sup>1</sup>, Hideki Muramatsu<sup>1†</sup>, Manabu Wakamatsu<sup>1</sup>, Yusuke Tsumura<sup>1, 2</sup>, Daiki Yamashita<sup>1</sup>, Ayako Yamamori<sup>1</sup>, Kotaro Narita<sup>1</sup>, Shinsuke Kataoka<sup>1</sup>, and Yoshiyuki Takahashi<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

<sup>2</sup>Division of Cancer Evolution, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan

†Co-corresponding authors.

DOI:[10.1038/s41375-026-02922-5](https://doi.org/10.1038/s41375-026-02922-5)

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Leu\\_260407en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Leu_260407en.pdf)