

別紙 1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 北澤 宏展

論 文 題 目

A simple and robust methylation test for risk stratification of patients with juvenile myelomonocytic leukemia

(若年性骨髄単球性白血病患者のリスク層別化のためのシンプルで堅牢なメチル化テスト)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

木村 宏

名古屋大学教授

委員

西川 博嘉

名古屋大学教授

委員

内田 広夫

名古屋大学教授

指導教授

高橋 義行

論文審査の結果の要旨

今回、若年性骨髄単球性白血病（JMML）患者のリスク層別化のためのシンプルで堅牢なメチル化検査法の開発を行った。JMML 患者は、DNA メチル化の国際分類法により、予後の異なる高メチル化（HM）、中間メチル化（IM）、低メチル化（LM）の 3 つのグループに分類される。137 名の JMML 患者を対象に、Digital Restriction Enzyme Analysis of Methylation（DREAM）を用いて解析を行った。DREAM データを用いた発見コホート（n=99）の教師なしコンセンサス・クラスタリングにより、HM と LM のサブグループが特定された（HM_DREAM, n=35; LM_DREAM; n=64）。国際分類法との比較が可能な 98 例のうち、HM（n=30）と LM（n=60）の 90 例は、DREAM のクラスタリング結果と 100%一致した。国際分類法で IM 群に分類されていた残りの 8 例については、4 例が HM_DREAM 群に、4 例が LM_DREAM 群に分類された。また、サポートベクターマシン（SVM）を用いた機械学習による分類器を構築し、検証コホート（n=38）を、5 年全生存率が有意に異なる HM 群（HM_SVM; n=18）と LM 群（LM_SVM; n=20）に分類することができた。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 本研究は、次世代シーケンサーを用いたメチル化解析法である DREAM 法を用いて、JMML 患者のメチル化状態を分類した初めての大規模研究である。DREAM 法の所要時間は、制限酵素 *Sma*I と *Xma*I を用いたライブラリの作成に 2 日間、データ解析時間を含めて個々のサンプルのシーケンスは 4~5 日で完了する。定量的で再現性が高く、サンプルごとに検査を行ってタイムリーに結果を得ることが可能である。メチル化による JMML 患者の重症度分類の臨床活用において広く利用されることが期待される。
2. DREAM 法は前向きな臨床試験において新たに診断された患者の層別化に利用できる可能性がある。HM 群に対して造血細胞移植を含めた積極的な治療を行うことで JMML の予後を改善させることが期待される。
3. クラスタリング分類に使用した 7,360 の CpG サイトにおける DNA メチル化と遺伝子発現の関係についてスターバーストプロットで可視化した。他の腫瘍と同様に、DNA メチル化と遺伝子発現レベルとの間に逆相関を示す遺伝子が多数同定されたが、RRBS や全ゲノムバイサルファイトシーケンスを含む他の次世代シーケンサーを用いた DNA メチル化解析法と比較して、DREAM 法で評価可能な 374,000 サイトはヒトゲノム全体の CpG サイトの 1.3%と比較的少数であったため、さまざまなパスウェイ解析を行っても、特定の遺伝子メチル化が JMML の疾患進行に関与する生物学的メカニズムは解明されなかった。HM 群が予後不良である機序の解明は今後の課題である。

本研究では、JMML 患者のリスク層別化のためのシンプルで堅牢なメチル化検査法が確立された。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	北澤 宏展
試験担当者	主査 木村 宏 副査 ₁ 西川 博嘉 副査 ₂ 内田 広夫 指導教授 高橋 義行			
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none">1. 本研究の新しい点と今後の展開について2. メチル化解析を行うことでJMML患者の予後は変わるかについて3. JMMLの高メチル化群が予後不良である機序について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、小児科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				