

論文の内容の要旨

論文題目 細胞集団全体の解析による骨髓異形成症候群の亜分類の同定とその予後予測

氏名 浅野大樹

骨髓異形成症候群は血液の悪性疾患のひとつであり、これまで主に形態学的な所見に基づいていくつかのサブグループに分類されてきた。しかしながら、形態学的分類のみではこの疾患群を分類しきることはできず、形態学的診断に基づけば同じサブグループに属する患者でも治療に対する反応性や予後に差があることが知られている。このため、臨床データを多変量解析することにより得られた結果からいくつかの予後予測手法が提唱されてきた。一方で、染色体や遺伝子の解析も行われてきており、5q-症候群のように新 WHO 分類では独立した亜群として扱われるようになったものも存在する。

フローサイトメトリーは従来 MDS 患者に対して臨床的に用いられることはあまり一般的ではなかったが、近年フローサイトメトリーを MDS の診断・治療に結び付けようという試みがなされつつありフローサイトメトリーによる測定と解析結果に基づく予後予測スコアリングも考案されている。

これまでの研究では異常細胞そのものに焦点が当てられその特徴を計測する手法が主であった。しかしながら、悪性腫瘍の維持は腫瘍細胞そのものだけではなく間質細胞や免疫細胞など周囲の環境にも大きく影響されていることが広く知られるようになってきている。今回 MDS の解析を行うに当たり私はこうした腫瘍細胞とその周囲の細胞を全体的に評価する方法を考案し、細胞集団全体の分布の違いが MDS の患者の予後に影響を与え得るのかどうかについて評価を行った。

今回私は、新規発症・未治療の MDS 患者の骨髓サンプルを健常者の骨髓サンプルと比較し、その信号強度の分布の差異を定量化するという新たな視点から解析を行い、これまでとは異なる MDS の診断・予後予測手法を提唱するとともに、今後の治療成績の向上に結び付けたいと考え本研究を行った。

生物学的データに多く含まれるノイズを除去し、適切にデータの比較を行うために適応的パーティショニング法を用いた。適応的パーティショニング法は画像解析等に於いて用いられている方法である。具体的には脳の MRI 画像から個体間の脳の構造の違いを検出する際などに用いるべく研究・開発が進められている手法である。

本研究から得られた結果は、フローサイトメトリーで計測された信号強度の分布の差異をもとに予後の異なるグループに分類することが可能であることを示唆するものであった。

生存曲線に関する差の検定では log-rank 検定で $p=0.0945$ 、一般化 Wilcoxon 検定で $p=0.0431$ と、統計学的有意差が得られたのは一般化 Wilcoxon 検定のみであった。Leukemia

free survival に関しては生存曲線の差に関して log-rank 検定 $p=0.22$ で、一般化 Wilcoxon 検定で $p=0.207$ であり統計学的有意差を見出すことはできなかった。Cox の比例ハザードモデルを用いた解析では死亡をイベントとした場合の単変量解析に於いて年齢、染色体核型、X 軸：SSC Y 軸：CD34 とした場合の信号強度の分布に関する検定尤度比統計量 (LR(SSC,CD34)、X 軸：SSC Y 軸：CD41a とした場合の信号強度の分布に関する検定尤度比統計量 (LR(SSC,CD41a)が有意な因子として同定された (年齢： $p=0.01214$, 染色体核型： $p=0.00249$, LR(SSC,CD34)： $p=0.02969$, LR(SSC,CD41a)： $p=0.02209$)。多変量解析では年齢、染色体核型が有意な因子として同定された (年齢： $p=0.01049$, 染色体核型： $p=0.00054$)。白血化をイベントとした場合の単変量解析では、年齢、芽球の割合 (%)、染色体核型が有意な因子として同定された (年齢： $p=0.01303$, 芽球の割合： $p=0.01481$, 染色体核型： $p=0.00036$)。多変量解析に於いても年齢、芽球の割合 (%)、染色体核型が有意な因子として同定された (年齢： $p=0.00008081$, 芽球の割合： $p=0.00008663$, 染色体核型： $p=0.0001389$)。

従来の臨床的分類・予後予測 (FAB 分類、WHO 分類、IPSS、WPSS) や染色体核型に基づくリスク分類と本研究で用いた検定尤度比統計量に基づく分類は独立していることが Fisher の正確検定で確認された (FAB 分類： $p=0.1827$, WHO 分類： $p=0.3471$, IPSS： $p=0.3515$, WPSS： $p=0.6092$, 染色体核型に基づくリスク分類： $p=0.6501$)。

骨髄細胞中の芽球の割合に関しても本研究で用いた分類が芽球の割合とは独立した分類であることが示された (Mann-Whitney U 検定： $p=0.5386$)。

本研究から得られた結論としては正常群と比較して CD34,CD41a の信号強度がより強く、FSC の信号強度がより弱い集団に於いてはそうでない群と比較した場合予後不良であるとの結論であった。従来 MDS の症例に於いては CD34,CD41a の発現が亢進していることが報告されているが、正常群と比較した場合の信号強度の差異を定量化し、その値に基づいて予後の異なる群に分類する方法はこれまで提唱されてはいない。FSC に関する差異に関しても同様である。

本研究では間質細胞に特異的なマーカーは測定されておらず、サイトカインの影響は直接には考慮されていない。間質細胞特異的なマーカーやサイトカインは臨床に於いて日常的に測定されておらずこれらのデータの蓄積が今後の課題として挙げられる。さらにはそれらを測定する抗体・手法のさらなる発展も本研究の手法による解析をさらに深める上では必須であり今後の研究・開発の進展が望まれる。

またフローサイトメトリーの機器そのものも、急速な進歩を続けておりマルチカラーの蛍光抗体測定が可能となりハイスループットな機器が次々に登場し得られるデータ量も急速に増加しつつある。それと同時に大量データを効率よく解析するための計算機、アルゴリズムも開発が急速に進んでおり、今後の大量データの計測・解析手法の進歩から新たな知見が得られることが期待される。本研究はそのための一助となることを目的とし MDS の病態への新たな視点を提示すべく行ったものである。