

研 究 報 告 書
令和5年度：A課題

令和7年 4 月 25 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 東京大学医科学研究所

住 所 東京都港区白金台 4-6-1

研究者氏名 昆 彩奈

(研究課題)

骨髄系腫瘍におけるスプライシング因子 *U2AF2* 変異の遺伝学・生物学的特徴の解明

令和5年 3月 18日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しました
のでご報告いたします。

【背景と目的】

骨髄異形成症候群(Myelodysplastic syndromes; MDS)は、血球形態の異常を伴った骨髄不全と急性骨髄性白血病への移行を特徴とし、高齢者に好発する難治性の慢性骨髄性腫瘍である。近年、ゲノム解析技術の進歩を背景とした遺伝子変異の包括的な探索を通じて、骨髄系腫瘍においては、スプライシング因子(Yoshida et al., *Nature* 2011), コヒーシン複合体(Kon et al., *Nat Genet.* 2013, Yoshida, Kon et al., *Nat Genet.* 2013)などの新たな遺伝子変異が同定された。

MDSにおいて最も高頻度に認められるスプライシング因子変異は、3' スプライス部位の認識に関わる因子(主に、*SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*の4遺伝子)に認められ、これらの遺伝子変異はほとんど互いに重複なく生じることから、共通の機序を標的としていることが示唆される。我々および他のグループによる、*Srsf2*変異、*Sf3b1*変異、*U2af1*変異の各スプライシング因子変異を有する患者検体や条件的ノックインマウスモデルの解析から、各スプライシング因子のRNAへの結合部位の違いを反映して、各スプライシング因子変異の標的スプライシング異常には相違が認められることが明らかになり、スプライシング因子変異によるMDSの発症メカニズムの理解には大きな進展が認められた(Kim et al., *Cancer Cell* 2016, Obeng et al., *Cancer Cell* 2016, Kon et al., *Blood* 2018)。一方、最近我々は、骨髄系腫瘍の全エキソン解析により、スプライシング因子である*U2AF2*遺伝子に、これまで報告されていない新規のp.190-195del変異が頻発することを同定した(Qi et al.)。本研究では、これまで明らかになっていない、*U2AF2*変異の遺伝学的・生物学的特徴を解明することを通じて骨髄系腫瘍の病態を解明することを目的として行った。

【方法と結果】

我々が多施設共同研究施設から集積した5000例以上の骨髄系腫瘍検体を用いて、次世代シーケンサーを用いた標的シーケンスを行い、骨髄系腫瘍における*U2AF2*変異の遺伝学的特徴の詳細な解析を行った。その結果、*U2AF2*変異が骨髄系腫瘍の約0.5%に認められ、その大部分(約85%)がp.190_195del変異であった。さらに、*U2AF2*変異例およびコントロール症例の骨髄単核球分画を対象にRNAシーケンスを行い、*U2AF2*変異に特徴的な発現異常や、スプライシング異常の標的遺伝子を同定した。

次に、*U2AF2*変異の機能的意義を、*U2AF1*変異と比較しながら解析するために、ヒト白血病細胞株*U2AF2*アリルに、CRISPR/Cas9技術を用いて、p.190-195delアリルをノックインすると同時に、*U2AF1* p.34F変異アリルをノックインした細胞株を作成した。クローニングした後にサンガーシーケンス法で確認し、目的のバリエーションが導入された単一細胞由来クローンを得た。取得した*U2AF1*および*U2AF2*変異導入細胞株を用いて、細胞増殖、アポトーシスを調べる機能アッセイ、RNAシーケンスによる発現・スプライシング異常の探索を行うことを通じて、*U2AF2*変異による特徴的なパターンのスプライシング異常を明らかにした。

【まとめと今後の展望】

本研究により、新規*U2AF2*変異の遺伝学的特徴が明らかになり、さらに、細胞株を用いた機能解析を通じて、*U2AF2*変異による特徴的なパターンのスプライシング異常が明らか

になった(Qi et al., manuscript in preparation)。U2AF2 は、U2AF1 と複合体を形成してスプライシングに関与する分子であることから、MDS に高頻度に認められる *U2AF1* 変異との機能的関連性を明らかにすることも、今後の重要な課題である。