

**【目的】** 若年性骨髄単球性白血病 (Juvenile myelomonocytic leukemia : JMML) は、主に 5 歳未満の小児に発生する予後不良な血液悪性腫瘍である。JMML は、本邦で年間約 20 例が発症する非常に稀な小児がんの一病型である。JMML 患者の約 9 割は、細胞の分化や細胞増殖のシグナル伝達に關与する RAS 關連遺伝子 (*PTPN11*, *NRAS*, *KRAS*, *NF1CBL*) に遺伝子変異を認める。一部の JMML 患者では、RAS 経路の遺伝子変異に続いて、*SETBP1* や *JAK3* 遺伝子にセカンドヒット変異を認め、これらの変異を認める患者は化学療法に抵抗性で再発率も高く、特に予後不良である。また、2018 年にゲノムワイドなメチル化解析が大規模に行われた結果、高メチル化プロファイルを認める症例で有意に予後が不良であることが明らかとなった。ゲノムは、様々な構造状態を取ることによって空間的に近い距離にあるゲノム同士が相互に影響し、遺伝子発現の On と Off のスイッチを切り替えて、細胞の機能・分化・恒常性の維持を制御する。最近、次世代シーケンサーによる解析技術の著しい進歩により、遺伝子発現の調節を担う基本単位である Topology associating domain (TAD) を同定し、3 次元的なクロマチン構造解析法 (Hi-C 法) が技術的に可能となった。TADs は、遺伝子発現調節の基本構造単位とし、500 kb から 1 Mb 程度の領域に複数の細胞特異的、あるいは発生時期特異的に働く coding 遺伝子と、その発現調節領域を含む長い DNA 単位が大きな塊を作り、急性白血病でも特徴的な TADs が報告されている。本研究では、Hi-C 法を用いて、JMML における 3 次元クロマチンの構造変化に対して、どの領域に、どのように影響を及ぼすかを検討し、JMML の病態に關連するゲノム領域の同定やクロマチン構造の制御機構を解明することを目的とした。

**【方法】** 本研究で実施する Hi-C 法では、JMML 患者由来骨髄単核球細胞を死細胞の除去を行った後に、空間的に近接關係にあるゲノム領域を保存したまま抽出するため、ホルムアルデヒドを用いてクロスリンクした。クロスリンクした後に、クロマチンを制限酵素で切断し、切断された DNA 末端にビオチン化ヌクレオチドを取り込み、ライゲーション処理を実施した。脱クロスリンクの後 DNA を精製し、精製 DNA から次世代シーケンサーを用いて解析を行うために、シーケンスライブラリーを調製した。既存のツールを用いて、作成ライブラリーをペアエンドで解析しコントロールデータとして正常健康人の凍結保存細胞を用いた同様の Hi-C 解析を行い、比較した。

**【結果】** Hi-C 解析を JMML 患者と健康人で実施し、全体で 2,400 個の TADs を同定した。うち、両者で共通する TADs は、1,485 個で、JMML 患者に特異的な TADs 領域は 399 個であった。次に、public database から急性骨髄性白血病細胞株の Hi-C データを抽出し、本研究の TADs と比較検証した。さらに、得られた領域に含まれる遺伝子の、mRNA 発現レベルとの相関關係を評価し、JMML に認められる TADs 領域、かつ遺伝子発現が有意に亢進している領域を複数同定した。今後は、サンプル数を増やして解析を継続する予定である。

2,400 個の TADs を同定

