

研究テーマ番号	IPSN194001
研究・発明のタイトル	白血病における微小残存病変定量法の確立
研究分野	診断薬
<p>1) 研究・発明の概要</p> <p>2) 成果概要</p>	<p>1) チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) により慢性骨髄性白血病 (CML) が原因で亡くなる患者は現在ほとんどおらず、深い寛解を果たした患者に対するTKIの休薬も検討されている。一方で、白血病幹細胞等の微小残存病変 (Minimal Residual Disease : MRD) が残存する限り再発の危険性は無視できず、日本血液学会は「分子遺伝学的に深い寛解 (Deep Molecular Response : DMR) が得られ安全にTKI治療が終了できる基準が確立されるまでTKIを中止すべきでない」との見解を出している。新たなTKI服用は少なからず身体的・経済的な負担が生じることから、患者のQOL、予後改善のためには休薬が望ましい。しかしながら、MRDの検出域は左図に示すように評価法が確立されておらず、TKI治療終了の基準となりうる技術 (高感度MRD検出技術) が必要であった。今回、発明者らは、CML患者検体に対して次世代シーケンサーを用いることで、MRDを定性的かつ定量的に検出する診断方法を確立した。</p> <p>2) ・寛解状態とは、病気の症状が一時的あるいは継続的に軽減または消失し、臨床的にコントロールされた状態をいうが、以下に示す理由から寛解状態が深いほどMRDの検出が難しくなる。①白血病幹細胞が転写活性の低下した静止期にあると考えられ、mRNAではなくゲノムDNAの検出が必要であること。②MRDの検出感度を上げるため、極微量のゲノムDNAを検出する感度が必要であること。③CML患者ゲノム中の22番染色体と9番染色体の転座部位 (BCR/ABL配列) は患者ごとに異なること。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・MRDを高感度に検出する方法として、次世代シーケンサー、PCR法、フローサイトメトリーを用いた測定法がすでに報告されている。しかしながら、次世代シーケンサーは高感度だが定量性に乏しく、PCR法は定量的だが正確性・検出感度で次世代シーケンサーに劣る。TKI治療終了の判断にはMRDの高感度かつ定量的な検出が望ましく、新たなMRD検出方法が求められていた。</li> <li>・発明者らは、以下の方法により、MRDを高感度、定量的に検出するこ</li> </ul> <div data-bbox="504 779 1062 1211" data-label="Figure"> <p>治療効果・検査法・臨床的意義</p> <p>国際標準法での BCR-ABL mRNA量</p> <p>臨床的意義</p> <p>100% 通常の血液検査 → QOL改善のみ 予後の改善なし</p> <p>10% 血液学的完全寛解 (CHR) → 病期進行の回避</p> <p>1% 骨髄液の染色体検査 → より確実な 病期進行の回避</p> <p>0.1% 細胞遺伝学的完全寛解 (CCyR: Ph 0%) → Drug-offの 可能性</p> <p>0.01% 分子遺伝学的大寛解 (MMR) → Drug-offの 可能性</p> <p>0.0032% 血液検査 (RQ-PCR法) → Drug-offの 可能性</p> <p>0.0007% 分子遺伝学的完全寛解 (DMR) → Drug-offの 可能性</p> <p>Deep Molecular Response (DMR) → Drug-offの 可能性</p> <p>評価法なし</p> <p>治療開始後の期間</p> </div>

<p>3) 適用分野・目標</p> <p>4) 今の研究予定</p>	<p>とを可能にした。すなわち、①患者骨髄血から抽出したゲノム DNA を対象とした次世代シーケンサーによる解析により、CML 患者ゲノム中の 22 番染色体と 9 番染色体の転座部位 (BCR/ABL 配列) を塩基配列レベルで同定する。②当該 DNA 切断点を挟む形で、患者 DNA ゲノム配列の 70～120 塩基を PCR で増幅するプライマーを設計し、CML 患者検体 (骨髄血及び/又は抹消血) から抽出した DNA に対して次世代シーケンサーによる解析を行なうことで MRD を検出する。③正常なゲノム DNA と患者検体 DNA を特定割合で混合したサンプルに対する次世代シーケンサー解析結果から検量線を作成することで、MRD を定量的に検出できる方法を示した (なお、付随的に、「正常なゲノム DNA、患者検体 DNA を特定割合で混同する際、厳密性を期すためにデジタル PCR を用いて各 DNA 量を測定する」こと、「CML 患者検体をフローサイトメトリーにより特定細胞集団ごと (例:T 細胞、B 細胞、等) に分画した上で次世代シーケンサーを用いて解析することにより、MRD が患者のどこ (どの成分) に含まれているかを確認する」ことも可能であるとしている。)</p> <p>3) 本法により MRD を高感度かつ定量的に検出することができ、正確な病状診断が可能となった。これにより、今後の治療方針の決定、TKI 等の CML 治療薬の中止判断が可能となる。</p> <p>4) 診断法のさらなる改良と臨床現場への普及</p>
<p>希望する提携の種類</p>	<p>共同研究、委託研究、ライセンスアウトなど</p>
<p>特許出願 (予定)</p>	<p>有</p>
<p>関連特許の出願の有無</p>	<p>無</p>
<p>学術発表 (予定)</p>	<p>論文発表の予定有り</p>
<p>共同研究の有無</p>	<p>無</p>

註：本資料は知的財産戦略ネットワーク (株) が全ての権利を有しており、本目的外の使用を禁ずる。