

独立行政法人国立がん研究センター研究所 がんゲノミクス研究分野 リサーチレジデント 棟方 理

研究の分類・属性

内科系

研究の概要

悪性リンパ腫は、病理組織学的に 50 以上の病型に細分化されており、また病理学的に一つに分類されていても、不均一な病型も多い。更に、腫瘍組織中への反応性正常細胞の混入も多く、網羅的なゲノム解析を困難にする。一方で、節外性 MALT リンパ腫は、全悪性リンパ腫の約 5%を占め、胃・小腸・肺・眼付属器（眼窩組織・結膜・眼瞼・涙腺）など様々な臓器に発生するが、*Helicobacter pylori* などの感染症、慢性甲状腺炎や Sjögren 症候群などの自己免疫性疾患により惹起される慢性炎症を基礎として発症する比較的均一な集団と考えられている。本研究では、眼付属器 MALT リンパ腫を中心とする節外性 MALT リンパ腫の病態解明を目的とした、高速シーケンサーによる遺伝子変異の網羅的解析を行う。

研究経費

2,500 千円

研究班の組織

棟方 理	国立がん研究センター研究所 がんゲノミクス研究分野 リサーチレジデント	研究全体の総括・成果発表 シーケンス・データ解析
小林 幸夫	国立がん研究センター中央病院 血液腫瘍科 外来医長	患者説明・同意取得 研究指導
野本 順子	国立がん研究センター中央病院 血液腫瘍科 臨床検査技師	DNA抽出 シーケンス サンプル・DNA調整
飛内 賢正	国立がん研究センター中央病院 副院長、血液腫瘍科・造血幹細胞移植科 科長	患者説明・同意取得 相談役・研究指導

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

本研究は、眼付属器 MALT リンパ腫を中心とする節外性 MALT リンパ腫を対象とし、次世代シーケンサーを用いた網羅的ゲノム解析による新規遺伝子異常の同定を第一の目標とする。同定された新規遺伝子異常について、他の悪性リンパ腫検体を含めた多数症例について変異検索を行い、その正確な頻度を確認する。同時に培養細胞を用いた遺伝子導入・RNA 干渉などの実験手法を用いて同定された遺伝子の機能解析を行い、悪性リンパ腫における新たな治療標的の同定・治療法開発を目指す。

第1年次

(到達目標)

- 1 眼付属器 MALT リンパ腫の患者に対する研究内容説明・同意取得および臨床検体の収集
- 2 DNA ライブラリー作成・次世代シーケンサーによるシーケンス
- 3 シーケンスデータの解析および Sanger 法による検証

(年次評価時点の実績要点)

1. 眼付属器 MALT リンパ腫の患者に対する研究内容説明・同意取得および臨床検体の収集

① これまでに当院で治療を受けた眼付属器 MALT リンパ腫患者 19 名から同意を得た。

2. DNA ライブラリー作成・次世代シーケンサーによるシーケンス

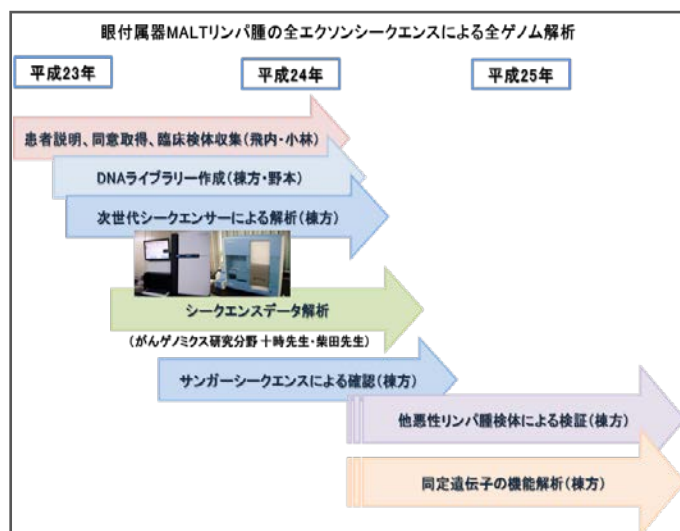
① 上記 19 名の連結可能匿名化を行った後、腫瘍および末梢血より DNA 抽出を行った。

② 19 症例 38 検体について、DNA ライブラリーを作成し、Genome Analyzer IIX を用いたシーケンスを終了した。

3. シーケンスデータの解析および Sanger 法による検証

① 全 19 症例について、データ解析を行い、single nucleotide variant および insertion/deletion の同定を行った。

② データ解析により同定された somatic variant について、Sanger 法を用いて検証を行った。



研究成果と考察

第1年次評価時点

19 症例 38 検体について genome analyzer IIX によるシーケンスを行い、データ解析が終了した。19 症例において複数のタンパク質を変化させる変異 (nonsynonymous mutation、splice site mutation および coding indel) が予測された。その中で 2 症例以上で変異を認めた遺伝子は (recurrent mutated gene)、*TNFAIP3* を含めて 30 個であった。MALT リンパ腫は、前述のように *H. pylori* 感染や自己免疫性疾患などの慢性炎症を背景として起こることが知られているが、眼付属器 MALT リンパ腫を含めて明らかな慢性炎症の原因が不明な例も多く、何らかの炎症に関わる遺伝子に変異が起こっている可能性が示唆されている。*TNFAIP3* はその代表と考える。今回同定された変異遺伝子には、これまで MALT リンパ腫を含めて悪性リンパ腫で変異の報告がない新規遺伝子変異も複数含んでいる。今後多数検体・他病理組織型での検証および機能解析により悪性リンパ腫発症における役割を明らかにする必要がある。

倫理面への配慮

本研究に関して、「疫学研究に関する倫理指針」を遵守し、個人情報保護等、臨床検体 (血液・腫瘍組織等) 提供者の人権擁護上の配慮を十分に行い、不利益・危険性が起こらないように留意する。検体については、連結可能匿名化を行った後に解析を行う。本研究を実施するにあたり国立がん研究センター倫理審査委員会の審査・承認を得た (研究

課題 番号 2011-014)。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

平成 23 年度 なし