

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「分子プロファイリングによる新規標的の同定を通じた難治がん治療法開発」
(悪性中皮腫のプロファイリングによる新規分子標的の同定)
2. 研究開発代表者： 学校法人兵庫医科大学内科学呼吸器R C U科 教授 中野 孝司
3. 研究開発の成果：

中皮腫は極めて予後不良の稀な悪性腫瘍である。本腫瘍を対象にゲノム全エクソンの網羅的な解析を実施し、悪性中皮腫の発生、進展に関与するドライバー変異を明らかにし、新たな分子診断・治療への応用を図ることを目的とし下記の結果を得た。

① 悪性中皮腫の臨床検体の収集と保存

文書による同意が得られた悪性中皮腫患者から、全身麻酔下ビデオ補助胸腔鏡を用いて胸膜腫瘍組織を適切に採取し、同時に、血液や胸水等の体腔液試料を採取した。得られた生体試料(腫瘍組織、血液、胸腹水)及びこれらの試料から抽出したゲノムを平成 24 年度に基盤整備を行った管理システムで適切に保存した。中皮腫は腫瘍間質が多く、腫瘍細胞量の少ないタイプが存在するため、腫瘍組織の中皮腫細胞の含有率について、凍結切片標本を用いた HE 染色および cytokeratin-AE1/AE3 免疫染色を実施し検討した。50 ペア検体の収集を目標としたが、目標を遥かに超える総数 80 ペア検体を収集した。

② 悪性中皮腫の網羅的遺伝子解析

同意の得られた悪性中皮腫患者から採取した腫瘍組織の網羅的遺伝子発現解析を臨床支援基盤と連携して実施した。全ての悪性中皮腫の網羅的遺伝子解析は終了し、BAP1 (29%)、SETD2 (10%)、SETDB1 (5%)、NF2 (22%)、LATS2 (6%) の遺伝子変異が確認された。これらの遺伝子について、中皮腫の臨床病態、病理亜型等との関係を確認した。ICGC-TCGA 悪性中皮腫ゲノム解析国際コンソーシアムとの連携においては、クラスター解析により日本人の中皮腫に特有の変異プロセスの所見が得られた。また、40 歳代の比較的若い悪性中皮腫の 2 症例に Haploid が疑われた。

③ プログラムの総合的推進

兵庫医科大学と愛知がんセンターの各分担研究者は、常に連携を密にし、中皮腫の検体収集、遺伝子変異・遺伝子発現解析を進めた。インターネットによる会議で、プログラム全体の進捗状況、ICGC-TCGA との討議内容などの情報を常に共有化し、本プログラムの総合的な推進を行った。

④ 悪性中皮腫細胞株の遺伝子変異・発現解析

中皮腫樹立細胞株を用いて、中皮腫の遺伝子変異や遺伝子発現異常を検討した。BAP1 や NF2 腫瘍抑制遺伝子など従来から中皮腫において変異の報告がある遺伝子変異が確認されるとともにヒストン修飾に関わる SETDB1 や SETD2 遺伝子等の変異の存在が明らかとなった。中皮腫細胞に対して増殖・浸潤への関与が予想された転写共役因子 TAZ の発現を検討するとともに、TAZ のノックダウンによって発現が変化する遺伝子を検討した。

⑤ 悪性中皮腫細胞株を用いた遺伝子機能解析

悪性中皮腫の発がん、増殖・浸潤等に関わることが想定された遺伝子に着目し、中皮腫細胞株あるいは不死化した正常中皮細胞株に遺伝子を導入あるいは抑制することにより、中皮腫に対する増殖・浸潤等の細胞生物学的な影響を検討した。不死化正常中皮細胞株にがん遺伝子 YAP1 を導入することにより発現が上昇する遺伝子群から 5 つの遺伝子に着目して機能解析を行った結果、PLCB4 遺伝子が中皮腫に対する増殖の亢進に寄与しており、PLCB4 遺伝子の抑制により中皮腫細胞の増殖が抑制されることが明らかとなった。