

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「希少がん・小児がん」

(軟部肉腫に対するゲノム解析による新規治療標的分子の探索)

2. 研究開発代表者： 松田浩一 (国立大学法人東京大学 大学院新領域創成科学研究科)

3. 研究開発の成果

軟部肉腫ゲノム解析体制の構築においては、資料収集の採取手順、臨床情報規格を統一化するため標準作業手順所 (SOP) を作成し、参加 8 医療機関に対する周知、実施を進めた。また倫理審査未承認の医療機関に対しては、各種書類の準備をするなど審査のサポートを行い、全機関の倫理審査承認を得た。

新規臨床検体の収集、既存臨床検体のデータベース化においては、関連医療機関において、各種肉腫について新規臨床検体の収集を進めた。検体収集に当たっては、腫瘍組織 (3-7 mm 大) 及び正常組織をインフォームドコンセント取得の上、採取した。最終的には各施設から収集した新規・既存の臨床検体を合わせて、81 の腫瘍組織検体と 47 の正常組織検体を収集した。さらに脱分化型脂肪肉腫検体について、年齢、性別、腫瘍最大径、部位、深さ、初診時の転移の有無、Stage、局所治療の種類、手術術式、切除縁評価、局所再発の有無、初診時以降の遠隔転移の有無、遠隔転移確認日、最終観察日、転帰、病理所見等の情報を整理、入力を進めた。また 8 施設より収集された脱分化型脂肪肉腫について提供凍結腫瘍組織の組織標本と診断時の病理診断報告書、切り出し図、HE 染色標本との比較を行い、収集検体の病理学的評価を行った。また同じ症例の凍結組織の組織標本において腫瘍細胞の含有率を確認し、ゲノム解析可能検体を選択した。以上の病理評価に基づいてゲノム解析可能検体を選択した。またゲノム解析の結果、腫瘍に特徴的な第 12 番染色体の遺伝子増幅が検出されなかった脱分化型脂肪肉腫 7 症例の病理組織像の再評価を行った。

各再委託機関より提出された組織片より核酸 (DNA 及び RNA) の精製を行った。DNA は腫瘍組織より 81 検体、正常組織より 47 検体を、RNA は腫瘍組織より 81 検体、正常脂肪組織より 2 検体を精製し、解析に向けて精製後の核酸と残余組織片を -80°C に保存した。

また次世代シーケンサーを用いて多数のサンプルを解析して得られる超大量のデータを処理するため、データの一次解析、二次解析にあたる解析ソフトウェアの選定を行い解析パイプラインの構築準備をすすめた。三次解析での解析ソフトとして体細胞変異解析では Genomon- Fisher、EB call を、コピー数解析で CopyNumber を、発現解析では Cufflinks を、融合遺伝子解析では Genomon-Fusion を選択した。

プログラムの全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、平成 27 年 7 月 18 日および平成 28 年 1 月 9 日に当該研究領域チームに参画する機関が参加する班会議の開催し、平成 26 年度の研究の進め方等につき、情報共有を図った。

平成 27 年度は、脱分化型脂肪肉腫において 32 症例、40 腫瘍検体の全エクソーム解析および 16 症例 22 腫瘍検体の RNA シークエンス解析を終了した。全エクソーム解析では、体細胞変異解析、コピー数解析を進め、体細胞変異を繰り返し認める 6 遺伝子および高頻度にコピー数異常 (増幅・欠失) が生じている約 100 領域を同定した。複数の腫瘍組織検体で共通して認めた遺伝子変異の数はさほど多くなく、新規治療標的となりうる遺伝子異常の同定には至っていないが、コピー数異常はより高頻度に認められるものが存在していることから、今後、発現解析と合わせて解析することにより、新規治療標的となりうる遺伝子異常の同定を試みる必要がある。

研究開発はいずれにおいても特に問題なく遂行しており、各々の研究開発項目の実施状況としては概ね順調であった。