

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：眼部希少がんの発生・多様性獲得機構の「鍵となる」分子・分子経路の特定と、二次がん発生のサーベイランス体制の確立
2. 研究開発代表者： 鈴木茂伸（国立研究開発法人 国立がん研究センター中央病院眼腫瘍科）
3. 研究開発の成果
 1. 後ろ向き臨床情報・試料集積、解析技術の確立、ゲノム解析
 - ・保存検体の病理学的検証
前年度に作成した網膜芽細胞腫の Tissue Micro-Array (TMA) を用い、免疫染色解析を行った。健康網膜組織は染色されず腫瘍組織が特異的に染色される分子 X を同定し、新規診断マーカー候補と考え DNA 解析などを開始した。一部腫瘍試料では RB1 に対する免疫染色陽性の結果が得られた。
 - ・二次がんの臨床情報収集
前年度までに 35 例の二次がんが収集された。本年度は肉腫 1 例の新規発症を追加した。
 - ・DNA 抽出法の検討
超音波破碎装置(Covaris)を用いることにより、従来の方法に比して DNA, RNA いずれも高収率かつ、その後の酵素を用いた解析が効率良く進む方法を確立した。
 - ・ゲノム解析
網膜芽細胞腫 50 試料から DNA を抽出し、約 100 個のがん関連候補遺伝子を搭載したパネル (NCC oncopanel ver 3.0) を用いた高深度シーケンシング (deep sequencing) を行った。10 試料において複数の解析法を用いても *RB1* 遺伝子に変異が検出されなかった。
 2. 前向き試料の収集・ゲノム解析
 - ・試料収集
網膜芽細胞腫 30 検体、脈絡膜悪性黒色腫 5 検体、結膜腫瘍 2 検体、眼窩腫瘍 5 検体を収集した。検体採取から次項の遺伝子解析までシームレスに行う体制を構築した。
 - ・ゲノム解析
全エクソン解析 (WEG) に先立ち品質管理目的に SNP アレイ解析を行った。付随情報としてコピー数異常 (CNA) の情報が得られ、CNA のほとんど見られない試料から、顕著な CNA を示す試料まであり、網膜芽細胞腫の heterogeneity が示唆された。
収集試料の 10 検体を用いて網羅的 mRNA 解析を行うとともに、2 検体の腫瘍特異的発現分子の ChIP 解析を行い、後ろ向き試料で発見した分子 X の発現亢進を確認した。
 3. 新規診断マーカーの探索・開発
 - ・遺伝子改変マウスの作成
SOX-10 の蛍光レポーターマウスを作成し、眼球の形成段階で SOX-10 の発現が亢進していること、上流および下流の因子も発現が亢進していることが確認された。
 - ・新規マーカーの探索・同定
ヒトの後ろ向き、前向き試料の検討、および遺伝子改変マウスの解析結果から、SOX-10 分子が眼腫瘍の特異的マーカーとなりうることを確認した。
 4. その他