

次世代シーケンサーを用いた中枢神経系原発悪性リンパ腫の遺伝子変異プロファイルの解明

| | |
|---------|---|
| 著者 | 福村 知隆 |
| 学位授与年月日 | 2016-03-24 |
| URL | http://doi.org/10.15083/00073667 |

論文の内容の要旨

次世代シーケンサーを用いた中枢神経系原発悪性リンパ腫の遺伝子変異プロファイルの解明

福村知隆

中枢神経系原発悪性リンパ腫 (primary central nervous system lymphoma: PCNSL) は、中枢神経系に限局する稀な非ホジキンリンパ腫であり、その多くが病理学的にびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL) に分類されている。PCNSL は全ての中枢神経系腫瘍の 2-3% を占めており、平均生存期間は 2-4 年と極めて予後不良な疾患である。好発年齢は 50-70 歳であり、その発生率は増加傾向にある。発症に関与する因子としてエプスタイン・バーウイルスやエイズウイルスなどのウイルス関連が知られているが、ウイルス感染によるものでない症例も多くあり、その発症原因は依然として不明のままである。

本研究では、外科手術によって切除された 41 症例の PCNSL 腫瘍組織および末梢血単核球を用いて全エクソン解析を行い、さらに 30 症例の PCNSL 腫瘍組織を用いて mRNA 解析を行った。

全エクソン解析では、読み取り重複度の平均として腫瘍部で 158x、末梢血単核球で 81x の塩基配列情報を得ることができ、全エクソンの 98% 以上を網羅することに成功した。MuTect アルゴリズムを用いた体細胞変異の解析では総計 17,385 種類を検出することができ、そのうちアミノ酸の置換をもたらす変異 (非同義変異) の数は 10,765 (62%) であった。さらに総計 84 変異を選び出し Ion Torrent システムを用いてシーケンスした結果、全ての変異が検出され、HiSeq2000 システムによる変異解析の結果が極めて良質なものであることが示された。

41 症例の PCNSL における非同義変異数の平均は 1 メガベースあたり 3.2 であり、以前に報告された全身性 DLBCL の値と類似していた。しかしながら、その体細胞変異数は症例間で大きく異なっており、我々はその原因として DNA ポリメラーゼ遺伝子や DNA ミスマッチ修復機構

関連遺伝子に着目した。体細胞変異数が増加している症例では DNA ポリメラーゼ遺伝子である *POLE* や DNA ミスマッチ修復機構関連遺伝子である *MSH2*、*MSH6*、*MLH1*、*PMS2* の変異が同定され、これらの遺伝子異常は大腸がんや子宮内膜がんの発生や予後に影響を及ぼすことが知られていることから、本疾患においても極めて重要であると考えられる。

塩基置換パターンの解析では C から T に置換する変異の割合が全体の 57.8% を占めており、特に GCG の配列で顕著であった。全身性 DLBCL では免疫グロブリン遺伝子以外の遺伝子に変異が複数生じてしまう異常な体細胞超変異 (aberrant somatic hypermutation: aSHM) が頻繁に観察されており、この SHM は DNA 中の C からアミノ基を取り除き T に変換する酵素である活性化誘導シチジンデアミナーゼによって誘導されることが知られている。そのため、我々は PCNSL において aSHM の標的となっている遺伝子について調べた。その結果、*PIMI* と *BTG2* が非常に高頻度で体細胞変異を獲得していることが明らかになり、これら遺伝子の SHM が本疾患の発生に大きく寄与していることが示唆された。

MutSigCV アルゴリズムを用いた発がん関連遺伝子候補の解析では 15 種類の遺伝子を選び出すことができた。その中には *TBLIXR1* や *MYD88* など PCNSL で以前に同定されていた遺伝子や、*PRDM1* や *KMT2D* など全身性 DLBCL で同定されていた遺伝子が多くを占めていた。しかしながら、そのような既知の遺伝子の中で *GNAI2* は未だ報告されていない遺伝子であった。興味深いことに、*GNAI2* の 2 種類の変異 (K271del 変異と G45E 変異) は複数の症例で検出され、さらに 1 つの変異 (I56T 変異) 以外は全て GTP 結合領域内に集中していた。この結果は、PCNSL において *GNAI2* の変異が極めて重要であることを示唆している。

複数の症例で同定された同一アミノ酸置換による遺伝子変異解析では、NF- κ B 経路関連遺伝子である *IKBKB* の V203I 変異が検出され、機能解析の結果から活性型変異であることが立証された。NF- κ B 経路関連遺伝子の変異は aSHM 解析や発がん関連遺伝子候補の解析においても頻

繁に検出されていることから、本疾患の発生においてこの経路の異常が極めて重要であることが示唆された。

無増悪生存期間と遺伝子異常との関連における解析では、*HLA-C* の変異を有する症例が変異を有しない症例に比べて無増悪生存期間がより短いことが明らかになった、さらに染色体 7q35 のコピー数増大が認められ、予後不良群においてはこの染色体に位置する遺伝子群の発現が上昇していることも明らかになった。これらの結果は今後の PCNSL 患者の予後予測に利用できると考えられる。

PCNSL と全身性 DLBCL の遺伝子変異プロファイルによる階層的クラスター分析では、互いに独立したクラスターが形成された。両疾患は形態学的に区別することができないため同種の細胞集団と考えられていたが、本解析の結果により別種の細胞集団であることが明らかとなり、今後のさらなる解明が期待される。