



研究課題名 悪性リンパ腫における遺伝子異常を基盤とした発症機構・分子病態の統合的解明

慶應義塾大学・医学部・教授

かたおか けいすけ
片岡 圭亮

研究課題番号： 21H05051

研究者番号： 90631383

研究期間： 令和3年度～令和7年度 研究経費（期間全体の直接経費）： 143,600千円

キーワード： 悪性リンパ腫、CRISPRスクリーニング、シングルセル解析

【研究の背景・目的】

悪性リンパ腫は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) や、成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL)、節外性 NK/T 細胞リンパ腫 (ENKTL) などを含む不均一な疾患である。近年、リンパ腫においても遺伝子異常の全体像が解明され、様々な新規異常が同定されてきた。申請者らも、本邦に多い HTLV-1 感染を原因とする T 細胞性腫瘍である ATL の網羅的遺伝子解析を行い、PD-L1 3'-非翻訳領域 (UTR) 切断等の数十個を超える異常を同定してきた。また、最近、この延長として 150 ペアの ATL 検体を用いた高深度の全ゲノム解析を実施し、これまでの解析とは大きく異なる遺伝子異常の全体像が得られることを明らかにし、遺伝子 X などの新規異常を同定している (未発表)。

しかし、多くの異常の生物学的意義、特に、その分子機構や生体内でリンパ腫発症に果たす役割、微小環境に与える変化は不明のままである。

【研究の方法】

本研究では、申請者が同定した異常を中心に、新規に導入・開発した CRISPR スクリーニングや単一細胞マルチオミクス解析技術等を応用することで、リンパ腫で認められる遺伝子異常の詳細な分子機構・生体内における役割・微小環境に与える変化を解明することを目指す。具体的には、以下を実施する。

A. 申請者の遺伝子解析研究で同定された異常の分子機能の解明・疾患動物モデルの解析：PD-L1 3'-UTR 欠失や ATL でアイソフォーム特異的に変異が認められる GENE X の動物モデルの構築・解析等を実施する。

B. 生体内 CRISPR スクリーニングによるリンパ腫発症に寄与する遺伝子異常の高効率な検証：これまでに ATL や ENKTL で同定された機能喪失型異常を示す遺伝子を標的とする sgRNA カスタムライブラリーを用いて、悪性リンパ腫が発症することを確認している。本研究では、ATL や ENKTL における研究を拡大するだけでなく、DLBCL 等の他のリンパ腫で認められる異常も対象として同様の生体内 CRISPR スクリーニングを行う。腫瘍を発症した場合、表面マーカーや病理組織等の解析により表現型を明らかにし、バーコードシーケンスにより腫瘍で濃縮される sgRNA を同定する。

C. CRISPR 制御部位スクリーニングによる B 細胞リンパ腫特異的 PD-L2 発現制御機構の解明：PD-L2 の B 細胞リンパ腫に特異的な発現制御機構を解明するた

めに、網羅的 CRISPR 制御部位スクリーニングによる解析、および、PD-L2 発現制御に関わる転写因子を CRISPR スクリーニングにより探索する。

D. 単一細胞マルチオミクス解析のマウスリンパ腫モデルへの応用とリンパ腫微小環境の解明：多数の表面マーカー解析とトランスクリプトーム解析・TCR/BCR レパトア解析を同一の単一細胞レベルで実現できる技術 (単一細胞マルチオミクス解析) のマウスモデルへの応用を図る。

E. ヒト検体由来の網羅的遺伝子解析データを用いた臨床応用の可能性の探索：項目 B や C に関連して新規に見出された異常について、実際にヒト検体由来データを用いて検証する。

【期待される成果と意義】

これらの結果、リンパ腫の新規の治療標的・バイオマーカーの開発に繋がると同時に、遺伝子解析パネルへの実装を通して実用化され、がんゲノム医療に資することが期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Landscape and function of multiple mutations within individual oncogenes. Saito Y, Koya J, Araki M, Kogure Y, Shingaki S, Tabata M, McClure MB, Yoshifuji K, Matsumoto S, Isaka Y, Tanaka H, Kanai K, Miyano S, Shiraiishi Y, Okuno Y, Kataoka K. *Nature*. 2020;582(7810):95-99.
- Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers. Kataoka K, Shiraiishi Y, Takeda Y, Sakata S, Matsumoto M, Nagano S, Maeda T, Nagata Y, Kitanaka A, Mizuno S, Tanaka H, Chiba K, Ito S, Watatani Y, Kakiuchi N, Suzuki H, Yoshizato T, Yoshida K, Sanada M, Itonaga H, Imaizumi Y, Totoki Y, Munakata W, Nakamura H, Hama N, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kameda T, Masuda K, Minato N, Kashiwase K, Izutsu K, Takaori-Kondo A, Miyazaki Y, Takahashi S, Shibata T, Kawamoto H, Akatsuka Y, Shimoda K, Takeuchi K, Seya T, Miyano S, Ogawa S. *Nature*. 2016; 534(7607):402-6.

【ホームページ等】

<https://www.keio-hematology.jp/>

https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/molecular_oncology/index.html