

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20019

研究課題名(和文) 中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する網羅的メチル化解析による分子生物学的特徴の解明

研究課題名(英文) enome-wide DNA methylation profiling identifies primary central nervous system lymphomas as a distinct entity from systemic diffuse large B-cell lymphomas

研究代表者

中村 大志 (NAKAMURA, Taishi)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：60771615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)に対するDNAメチル化を解析することで更なる分子生物学的特徴を明らかにすること目的として網羅的メチル化アレイ解析をPCNSL腫瘍100症例に対しておこなった。全身性びまん性大細胞B細胞リンパ腫(DLBCL)データとの比較をおこないながら中枢におけるリンパ腫を特徴付けるエピゲノム変化を捉えたのでその内容を学会報告や論文をおこなった。最終的に本研究に基づいた論文報告をおこないActa Neuropathologica誌(IF 12.213 2016/2017)に採択された(Published online: 5 January 2017)。

研究成果の概要(英文)：Based on the notion that DNA methylation profiles better represent the underlying biology of cells, we performed a 450K methylation analysis in a large series of PCNSL and compared with that of systemic DLBCLs. Our results showed that PCNSL have distinct DNA methylation profiles compared with systemic DLBCLs, while a subset of systemic DLBCL shared a similar methylation profile with PCNSL, suggesting that PCNSL may have developed from those DLBCL that acquired hypermethylation and higher affinity in CNS. We propose that PCNSL originates from mature B cells outside CNS and belongs to a distinct lymphoma entity from the majority of systemic DLBCL. This report was accepted for publication in Acta Neuropathologica (IF 12.213 2016/2017) (Accepted: 24 December 2016 / Published online: 5 January 2017).

研究分野：Brain tumor

キーワード：PCNSL DLBCL CpG island DNA methylation

#### 1. 研究開始当初の背景

中枢神経系原発悪性リンパ腫 (Primary Central Nervous System Lymphoma, PCNSL) は脳実質内において発生・増殖し、現在の標準的治療法によっても平均生存期間が40ヶ月程度ともっとも治療困難な原発性脳腫瘍のひとつである。我々はこれまでにPCNSLについて、中枢神経系に特殊な免疫環境の観点からこの腫瘍を特徴づける遺伝子解析結果を報告した。また、近年、全身性DLBCL (140症例) に対するDNAメチル化解析が最近報告され(Chambwe *et al* 2014)、正常成熟リンパ細胞を基準にしたDNAメチル化の違いが正常リンパ細胞のDNAメチル化プロファイルと比べてより乖離するにしたがって6群にクラスターされた。それらの群間でDNAメチル化プロファイルの違いと共に臨床的予後に違いがみられた。諸説あるPCNSLの腫瘍起源がその一説である頭蓋外からの侵入であれば免疫学的・腫瘍学的バリアーである脳血管関門 (blood brain barrier: BBB) を越えて頭蓋内に侵入する際に細胞接着、血管内皮接着は重要な役割を果たし、PCNSLが全身性DLBCLと比較して臨床予後が悪いのは「単に中枢神経系組織にできたから (発症した部位が原因で臨床予後が悪い)」というだけでなく、分子生物学的レベルの違いがある (より転移・浸潤性が高いものが多い) 可能性が考えられる。

#### 2. 研究の目的

今回、PCNSLに対するエピゲノム領域、とりわけDNAメチル化を解析することで更なる分子生物学的特徴を明らかにすること、またその結果を基にこれまで判っていないこの悪性脳腫瘍の起源に迫ることを研究の目的とした。

#### 3. 研究の方法

PCNSLにおけるエピゲノム異常 (DNAメチル化プロファイル) がどのようなものであるか探索するため、網羅的DNAメチル化アレイを施行する。その結果とこれまでにデータベースに公開されている全身性びまん性大細胞B細胞性リンパ腫(DLBCL)におけるDNAメチル化アレイデータと比較することでPCNSLの特徴について検証する。統計解析ソフトを用いた網羅的データによるクラスター解析等によって病理学的には同一であるPCNSLと全身性DLBCLがどのように群間分けされるかを検証する。さらに各分化段階の正常B細胞における網羅的DNAメチル化データと比較することでそのメチル化プロファイルの相同性よりPCNSLの起源を探索する。

#### 4. 研究成果

我々はこれまでに中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)に対するDNAメチル化を解析することで更なる分子生物学的特徴を明らかにすること目的として網羅的メチル化アレイ解析をPCNSL腫瘍100症例に対しておこなった。全身性びまん性大細胞B細胞リンパ腫(DLBCL)データとの比較をおこないながら中枢におけるリンパ腫を特徴付けるエピゲノム変化を捉えた。まずPCNSLと全身性DLBCLでは多くのCpGアイランドにおけるDNAメチル化状態について共通のプロファイルを示しながらそのなかでもPCNSLは全身性DLBCLと比較してグローバルなメチル化亢進状態を認めた。この結果はChambwe *et al* 2014の報告と併せるとPCNSLは病的にはDLBCLのなかにあり、そのなかで最も正常な成熟リンパ球のDNAメチル化状態から乖離した群であることを示しており、臨床上予後が悪いことを分子生物学的に支える結果であった。その内容を学会報告や論文化をおこなった。最終的に本研究に基づいた論文報告をおこないActa Neuropathologica誌(IF 12.213 2016/2017)に採択された(Accepted: 24 December 2016 / Published online: 5 January 2017)。また、脳腫瘍関連における学会発表や勉強会、また共同研究者による発表における引用によって多くの場面での発表を行った。本研究によって得られたアレイ解析データはGEOデータベースにGSE92676としてアップロードしており、今後のPCNSL

研究の基盤としての役割を果たすと考える。

Figure 1

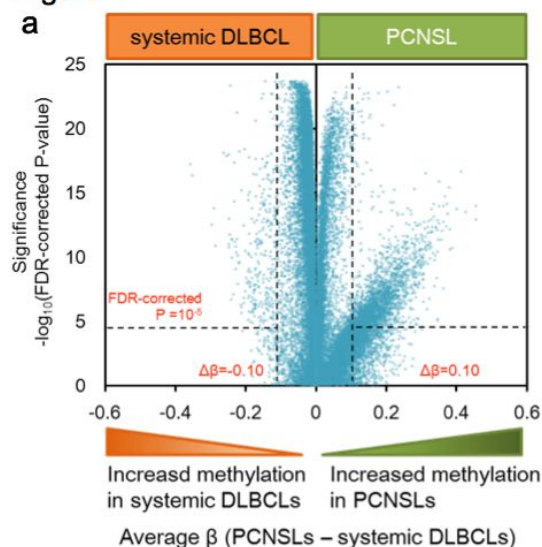


Fig. 1:PCNSL と全身性 DLBCL における DNA メチル化状態の比較.PCNSL は CpG アイランド部分における DNA メチル化が全身性 DLBCL に比較して網羅的に亢進していることが示された。

(英字)

Based on the notion that DNA methylation profiles better represent the underlying biology of cells, we performed a 450K methylation analysis in a large series of PCNSL and compared with that of systemic DLBCLs. Our results showed that PCNSL have distinct DNA methylation profiles compared with systemic DLBCLs, while a subset of systemic DLBCL shared a similar methylation profile with PCNSL, suggesting that PCNSL may have developed from those DLBCL that acquired hypermethylation and higher affinity in CNS. We propose that PCNSL originates from mature B cells outside CNS and belongs to a distinct

lymphoma entity from the majority of systemic DLBCL. This report was accepted for publication in Acta Neuropathologica (IF 12.213 2016/2017) (Accepted: 24 December 2016 / Published online: 5 January 2017).

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

(1) Nakamura T, Yamashita S, Fukumura K, Nakabayashi J, Tanaka K, Tamura K, et al. Genome-wide DNA methylation profiling identifies primary central nervous system lymphoma as a distinct entity different from systemic diffuse large B-cell lymphoma. Acta neuropathologica. 2017 Feb;133(2):321-4. PubMed PMID: 28058506. 査読あり

(2) 中村大志, 市村幸一. CNS リンパ腫の遺伝子変異. 腫瘍内科= Clinical oncology. 2017;20(5):441-7. 査読なし

(3) 長尾景充, 中村大志, 立石健祐, 佐藤秀光, 清水信行, 末永潤, et al. ESHAP 二次化学療法 of 再発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する後方視的検討. Neurological Surgery 脳神経外科. 2018 査読あり

〔学会発表〕(計 2 件)

第 11 回脳腫瘍の基礎シンポジウムシンポジウム (2016 年 5 月 14 日、東京) それ以外に科研費獲得前の準備データにおいて、日本脳腫瘍学会、2015/12/08、京都 (演題名: 中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する網羅的メチル化解析による分子生物学的特徴の解明)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 大志 (NAKAMUR, Taishi)  
横浜市立大学・医学部・助教  
研究者番号：60771615

(4) 研究協力者

市村 幸一 (ICHIMURA Koichi)  
山下 聡 (YAMASHITA Satoshi)