

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K24024

研究課題名（和文）眼内悪性リンパ腫に対する新規標的医薬の検討

研究課題名（英文）Anti-proliferative effects of new molecular-targeted drugs on Intraocular lymphoma

研究代表者

唐川 綾子（Karakawa, Ayako）

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：90844176

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は、微量な眼内悪性リンパ腫の患者検体から、digital PCR解析を用いて、高感度に遺伝子変異検出可能な系を確立し、新規変異遺伝子を含む4遺伝子(MYD88,CD79B,GENEX,GENEY)を同定した。BTK阻害剤は、網膜血液関門透過性が良好で治療候補薬と考えられた。そこで、MYD88遺伝子変異を有することを証明した細胞株(MWCL-1)を用いて、安定した腫瘍増殖能を確立し、各阻害剤の有効性を検証した。第1世代及び第2世代BTK阻害剤、GENEX、GENEY遺伝子阻害剤は、MWCL-1細胞株の増殖を濃度依存的に抑制する傾向がみられ、各分子標的薬の増殖抑制効果が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

眼内悪性リンパ腫の検体量は微量で、疾患特異的遺伝子を見出すことは困難で更なる候補治療薬の検討は難しかった。申請者は、digital PCR解析を用い、新規変異遺伝子を含む4遺伝子(MYD88,CD79B,GENEX,GENEY)を見出し、治療候補薬を検討した。MYD88遺伝子変異を有する細胞株(MWCL-1)を用いて、全ての疾患特異的遺伝子阻害剤(第1及び第2世代BTK阻害剤、GENEX、GENEY阻害剤)は、MWCL-1の増殖を濃度依存的に抑制する傾向がみられ、各分子標的薬の増殖抑制効果が示された。生命予後不良な眼内悪性リンパ腫の疾患特異的治療薬の新たな開発に繋がる可能性がある研究である。

研究成果の概要（英文）：We established the diagnostic method for Intraocular lymphoma (IOL) using Digital PCR. We detected disease specific genes, MYD88, CD79B, GENEX and GENEY, using this method. Recently, chemotherapy with Bruton-type tyrosine kinase (BTK) inhibition has attracted attention as the therapeutic approach of MYD88 mutant disease. In this study, we investigated the effect of GENEX inhibitor, GENEY inhibitor and the combination with BTK inhibitors on MWCL-1. The growth inhibitory effect was analyzed using WST-8 assay. All of the BTK inhibitors (ibrutinib, acalabrutinib), GENEX inhibitor, and GENEY inhibitor suppressed the proliferation of the MWCL-1 cell line in a concentration-dependent manner.

研究分野：眼内悪性リンパ腫

キーワード：眼内悪性リンパ腫 分子標的治療 遺伝子変異

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者は、眼内悪性リンパ腫 (IOL) の原発巣及び再発巣の免疫染色結果から、97%以上で病理学的に Activated B-cell type であることを解明し報告した (British Journal of Haematology, 2018)。さらに、眼内悪性リンパ腫の原因遺伝子の探索のため、微量な検体しか採取できない眼内悪性リンパ腫の患者検体から、遺伝子を増幅し、高感度に眼内悪性リンパ腫の遺伝子変異検出可能な系を既に確立し、眼内悪性リンパ腫の患者検体に対し、Digital PCR 解析を行い、新規変異遺伝子を含む 4 遺伝子 (MYD88, CD79B, GENEX, GENEY 遺伝子) を同定した。この確立した系を用いれば、眼内悪性リンパ腫の患者検体の、眼やリンパ節などに、広く応用可能である。

また、富山大学薬学部細谷らの共同研究にて、疾患関連遺伝子である MYD88 及び CD79B 遺伝子変異に対するシグナル阻害薬である BTK 阻害剤は、網膜血液関門透過性が良好で治療候補薬であることが分かった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、Bruton 型チロシンキナーゼ阻害剤 (BTK 阻害剤) は、眼内悪性リンパ腫に対する疾患特異的な標的治療として有効であるか検証することである。

3. 研究の方法

眼内悪性リンパ腫の疾患遺伝子変異を有する細胞株 (MWCL-1) を用いて、安定した腫瘍増殖能を確立し、Digital PCR 解析により、遺伝子変異を有することを証明する。MWCL-1 細胞株に対し、疾患特異的な遺伝子への阻害剤を投与し、WST-8 assay を用いて、増殖抑制効果について検討した。

4. 研究成果

中枢性悪性リンパ腫の細胞株では増殖能が元来不良で、サイトカインを用いて培養を継続し、ある程度の増殖能を確保したが、実際の検体は非常に微量であり、更なる増殖能の検討を要した。

そこで、眼内悪性リンパ腫の疾患遺伝子変異を有する細胞株 (MWCL-1) を用いて、安定した腫瘍増殖能を確立した。まず、Digital PCR 解析により、眼内悪性リンパ腫の疾患特異的な 4 遺伝子 (MYD88, CD79B, GENEX, GENEY 遺伝子) の変異解析を行い、MYD88 遺伝子変異のみを有することを明らかにした (図 1)。

図1 MWCL-1 Digital PCR解析

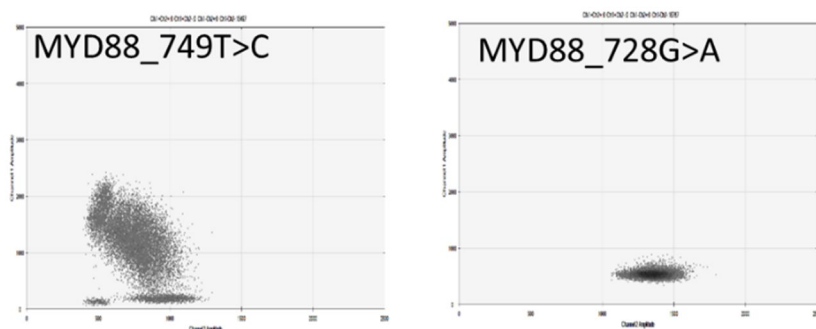
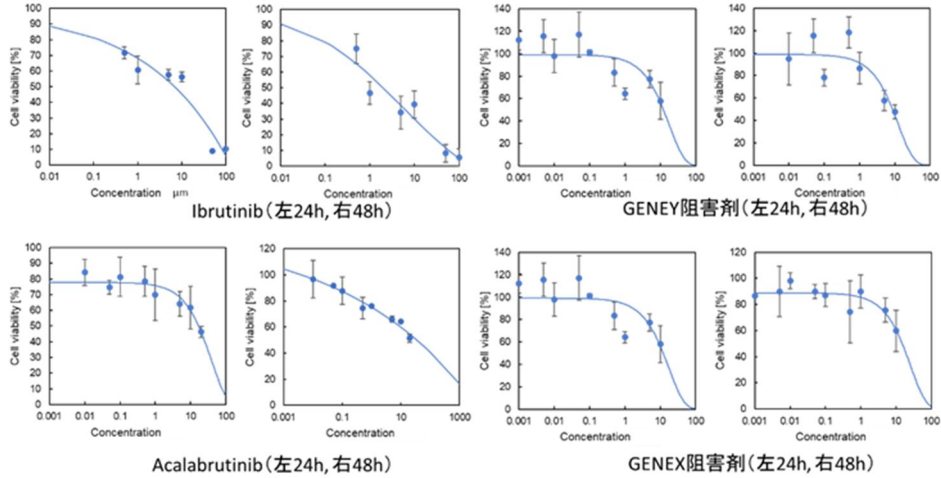


図2 疾患特異的遺伝子に対する阻害剤の有効性



次に、MMCL-1 細胞株に対し、疾患特異的 4 遺伝子 (MYD88, CD79B, GENEX, GENEY 遺伝子) の阻害剤の有効性について検討した。第 1 世代 (Ibrutinib) 及び第 2 世代 (Acalabrutinib) BTK 阻害剤は、濃度依存的に増殖を抑制し、第 1 世代に比べ第 2 世代の阻害剤は抑制効果が弱かった。また、GENEX, GENEY 遺伝子変異に対する阻害剤は、MMCL-1 細胞株の増殖を濃度依存的に抑制する傾向がみられ、全ての分子標的薬の増殖抑制効果が示された (図 2)。

さらに、各阻害剤の共曝露についても検討した。Ibrutinib、Acalabrutinib、GENEX 阻害剤、GENEY 阻害剤の相加効果はみとめられ、相乗効果については明らかにできなかった。BTK 阻害剤と、GENEX 阻害剤及び GENEY 阻害剤の作用機序では、異なるカスケードであり、このために相乗効果は得られなかったと考えられるが、更なる検討を継続している。

本研究は、横浜国大大学院飯島研究室及び東京大学血液腫瘍内科田岡らと共に行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 大久保篤、難波広幸、唐川綾子、西塚弘一、山下英俊	4. 巻 -
2. 論文標題 翼状片手術の短期成績と術後円柱度数，高次収差	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 あたらしい眼科	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rie Tanaka, Toshikatsu Kaburaki, Kazuki Taoka, Ayako Karakawa, Hideki Tsuji, Masako Nishikawa, Yutaka Yatomi, Aya Shinozaki-Ushiku, Tetsuo Ushiku, Fumiyuki Araki	4. 巻 April1;1-7
2. 論文標題 More accurate diagnosis of vitreoretinal lymphoma using a combination of diagnostic test results: a prospective observational study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ocular Immunology and Inflammation	6. 最初と最後の頁 1354-1360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09273948.2021.1873394	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 唐川綾子
2. 発表標題 眼内悪性リンパ腫の臨床的特徴と最近の知見
3. 学会等名 埼玉県眼科医会・さいたま赤十字病院眼科合同懇話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川卓、沖永貴美子、唐川綾子、高本光子、石井清
2. 発表標題 A Case of serious vitreous hemorrhage associated with cataract surgery
3. 学会等名 第75回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眼内法線維柱帯切開術における抗血栓療法薬の影響についての検討
2. 発表標題 神田 怜、大久保 篤、唐川 綾子、中川 卓、沖永貴美子、高本光子、石井清
3. 学会等名 第67回埼玉県眼科集談会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田岡和城、唐川綾子、遠山 和博、田中理恵、正本庸介、蕪城俊克、相原一、黒川峰夫
2. 発表標題 眼内悪性リンパ腫に対する集学的治療の優位性と遺伝子変異による影響
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------