

試料・情報分譲申請用研究計画書(概要)					
研究番号	2017-0048	利用するもの	DNA 健康人の男性28歳2人、35歳1人、60代3人、健康人の女性20歳1人、24歳2人、60代3人 検体検査値(アレルギーは対象外)正常値、(本人申告による)がん既往歴 なし、B型肝炎既往歴 なし、C型肝炎既往歴 なし、結核既往歴 なし、感染症その他既往歴 なし、1型・2型糖尿病既往歴 なし、喫煙経験 なし、輸血経験 なし		
主たる研究機関	国立がん研究センター研究所		分担研究機関	なし	
研究題目	悪性腫瘍患者の化学療法に伴う超低頻度突然変異の蓄積に関する研究		研究期間	承認後直ちに ~ 西暦 2020年 5月 8日	
実施責任者	牛島 俊和	所属	国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野	職位	分野長
研究目的と意義	<p>がんに対する治療法の進歩に伴う長期生存例の増加に伴い、二次性白血病の発症も増加傾向にある。特に二次性白血病は一般人口と比較し140倍と頻度が高い。二次性白血病の主要な発症メカニズムとして、抗がん剤治療による突然変異の誘発が考えられている。しかし正常骨髄に蓄積した突然変異は超低頻度で、その測定は困難であるため、これまで詳細は不明であった。そのような中、当研究グループでは超低頻度の点突然変異を計測できる方法を新たに開発した。本研究では、抗がん剤治療による骨髄での突然変異の誘発の有無を明らかにすることを目的とする。そのために、がん患者の抗がん剤治療後の末梢白血球と、健康者の末梢白血球における点突然変異を計測し、骨髄における抗がん剤治療による点突然変異の蓄積を評価する。本研究により、突然変異測定による二次発がんリスク診断、ひいては二次発がんリスクの少ない治療法の開発につながることを期待できる。</p>				
研究計画概要	<p>1) 血液サンプル 治療後の小児がん患者の血液および健康者の血液を採取し、末梢白血球からゲノムDNAを抽出して蓄積した超低頻度の突然変異解析に用いる。小児がん患者の治療後の血液は、国立がん研究センター中央病院の小児腫瘍科を受診中の患者(骨肉腫・横紋筋肉腫の患者各15例)の抗がん剤治療後の血液を用いる。健康者の末梢白血球由来DNAは、東北メディカル・メガバンクから分与頂く。</p> <p>2) 超低頻度点突然変異の解析 申請者らの開発した方法[Yamashita et al. Cancer Letters 403; 152-158, 2017]を用いて点突然変異を解析する。通常の次世代シーケンシングでは低頻度の突然変異とシーケンシングエラーとを区別することができないが、本方法ではサンプルから無作為に選抜した100 コピーのDNAをテンプレートにしてライブラリを作製・シーケンスするので、理論上突然変異アレル頻度は1%になるためにより低頻度のシーケンシングエラーと区別することができる。Multiplex PCR により291 領域、合計15,552 塩基における点突然変異を計測し、得られた変異体の個数から各サンプルの突然変異頻度を計算する。</p> <p>3) 解析方法 若年者と高齢者の末梢白血球における点突然変異を計測し、健康人における加齢に伴う突然変異の蓄積を解析する。そして、がん患者の治療後の末梢白血球と、健康者の末梢白血球における点突然変異を計測し、抗がん剤治療による突然変異の誘発について解析する。治療後突然変異頻度や変異プロファイルがどのように変化しているか、その違いは何によるものか、薬剤の種類、その量、放射線量、治療スケジュール、年齢などの因子別に多変量解析により明らかにする。</p>				
期待される成果	小児がん患者における二次がんの発がんリスクを計測できるようになる可能性がある。また、同程度の治療効果をもつレジメンに関して、二次発がんのリスクの少ないものを選べるようになる可能性がある。				
これまでの倫理審査等の経過および主な議論	当該研究機関において、倫理審査委員会による承認をすでに受けており、治療後の小児がん患者の末梢白血球の採取と解析には着手している状態である。審査過程における論点として、コントロールサンプルの入手方法が挙げられた。健康人であることから当該研究機関では入手が困難であり、東北メディカルメガバンクに依頼するという事となった。				
倫理面、セキュリティー面への配慮	本研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認のもとに行われ、試料は匿名化し、遺伝子解析担当者に提供される。試料の匿名化は、研究に直接関与しない個人情報管理者である、国立研究開発法人国立がん研究センター中央病院所属の医師が行う。貴バンクにおいては、検体発送の時点で匿名化されたものを拝受する予定である。本研究では、末梢白血球を用いるため、正常細胞であるが、超低頻度の点突然変異を検出することが目的であり、生殖細胞系由来の突然変異を検出することはない。個人情報保護の観点から、遺伝子解析を担当する当センター研究所の研究者には個人情報提供されることはなく、提供者の個人情報は十分に保護されていると考えられる。				
その他特記事項					
* 公開日	平成30年12月14日				