

令和6年度 TR 事業研究奨励助成金

研究成果報告書

2025 年 5 月 13 日 提出

公益財団法人 がん研究振興財団
理事長 堀田 知 光 殿

報告者氏名：津村 悠介

研究課題：D. ライフステージやがんの特性に着目した研究
(テーマ) 全ゲノム解析による本邦の小児悪性腎腫瘍の発症機序、病態の解明

研究期間： 自 2024 年 4 月 1 日
至 2025 年 3 月 31 日

研究指導者：氏名 吉田 健一

公益財団法人 がん研究振興財団

(1) 期間中の研究について

1) 要旨

本研究は、本邦の小児悪性腎腫瘍の発症機序、病態を解明することを目的とし、88 例の腫瘍、正常ペア検体を対象に全ゲノム解析を行った。また、小児悪性腎腫瘍のうち最も頻度の高い Wilms 腫瘍については、本邦のデータと既存の公開ゲノムデータと比較・統合して解析を行った。

本邦の小児悪性腎腫瘍の遺伝子異常の landscape は概ね、過去に海外から報告されたものと類似した結果であった。統合解析では、症例数の拡大に伴い統計的検出力が向上したことから、複数の新規ドライバー遺伝子の候補を同定した。コピー数解析や構造異常解析は、1q gain や 16p loss、MYCN の増幅といった過去に Wilms 腫瘍で報告された既知の異常が再現された。また、生殖細胞系列の解析では、本邦で初めての報告となる *REST* 遺伝子の片アリル欠失に伴うがん素因の症例を同定した。

今後は、同定した新規ドライバー候補遺伝子の機能解析や、ゲノム異常と臨床データとの比較検討を進めることで、肺がんの病態解明や予後改善につながる理論的な基盤の構築を目指す。

2) 序

小児悪性腎腫瘍は小児がんの 5%程度を占め、本邦での発症者数は年間 100 人程度である。9 割程度が Wilms 腫瘍であり、その他の腫瘍としては、腎明細胞肉腫 (clear cell sarcoma of kidney: CCSK) や悪性ラブドイド腫瘍 (malignant rhabdoid tumor: MRT) などがある。近年の遺伝子解析技術の進歩により、小児腎腫瘍の遺伝学的な背景が徐々に明らかになってきているが、既知のドライバー異常では説明できない症例も一部に存在する。これらの発症機序の解明は、小児腎腫瘍の正確な診断や分類、層別化に加え、将来の標的治療の可能性にもつながる可能性がある重要な課題であるが、本邦における、小児悪性腎腫瘍を対象とした大規模なゲノム解析研究はこれまでに行われていない。本研究では、本邦の小児悪性腎腫瘍患者 88 例の検体を用いて、全ゲノムシーケンス (WGS) 解析を行うことで、本邦の小児悪性腎腫瘍、特に Wilms 腫瘍の分子遺伝学な背景を明らかにする。また、海外からの既報との比較・統合解析を行う。その上で、新規のドライバー遺伝子異常、cancer predisposition の探索を行うことを目的とする。

3) 実験方法

① シーケンスデータの取得と一次解析

本研究はAMED 革新的がん医療実用化研究事業の一部として実施した。日本小児がん研究グループ (JCCG) が過去に蓄積した 88 症例の小児悪性腎腫瘍患者の腫瘍-正常組織 (末梢血) について腫瘍は x120、正常は x30 のカバレッジとなるようにシーケンスされたデータを用い、図 1 に示すパイプラインを用いて、腫瘍と生殖細胞系列における遺伝子異常 (変異、挿入欠失、構造異常、コピー数異常) の検出をおこなった。

② Wilms 腫瘍における公開ゲノムデータとの統合解析

JCCG コホートから取得したデータの解析と並行して、Wilms 腫瘍の公開データセット (WGS; n=7, WXS; n=1) から合計で 347 症例分のデータを取得した (表 1)。fastq や bam/cram といったリードデータが取得できたものについては、本邦のコホートと同様のパイプラインを用いて各種遺伝子異常の検出を行った (図 1)。

③ Wilms 腫瘍の人種間の疫学の比較

本邦の Wilms 腫瘍コホート (n=68) は、後方視的ではあるが、JCCG の中央診断事業で収集した検体でありアンバイアスな検体収集がなされている。一方で、公開されている既存の WGS コホートは重症例や予後不良例を中心に検体収集がなされており、Wilms 腫瘍の疫学情報を反映していない。このため、本邦と欧米の Wilms 腫瘍のドライバー遺伝子の頻度を比較するため、米国の臨床試験 (NWT5-5) 登録例 (n=651) を対象としたパネルシーケンスの結果を利用し、比較検討した (Nat Genet. 2017 Oct;49(10):1487-1494.)

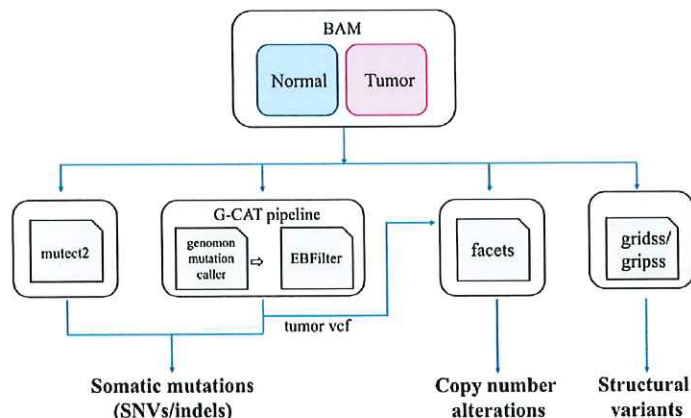


図 1. 本研究における WGS 解析で用いたパイプライン

表 1. 本研究で取得した公開データの内訳

Cohort	Region	Platform	Data type	N of cases
MP2PRT	USA	WGS	BAM	51
AREN18B5-Q	USA	WGS	FASTQ	50
Cancer Genome project	UK	WGS	BAM	23
St Jude Cloud	USA	WGS	CRAM	79
Childhood Cancer Data Initiative	USA	WGS	FASTQ	9
TARGET	USA	WGS	VCF	81
DKFZ	German	WXS	Variant list	54

4) 結果

① 本邦の小児悪性腎腫瘍の遺伝子異常の landscape

本邦のコホート 88 例の内訳は、Wilms 腫瘍 65 例、MRT5 例、CCSK4 例、Congenital Mesoblastic Nephroma 3 例、その他 3 例、であった(図 2)。Wilms 腫瘍では、*CTNNB1* や *WT1*、*AMER1* が高頻度で見つかることが知られているが本邦でも同様であった。MRT では *SMARCB1* の機能喪失異常が、CCSK では *BCOR*-ITD がそれぞれ全例で検出された。これらのドライバー異常は病型規定的であり、本研究で用いたパイプラインが正しく機能している傍証であると考えた。

新規ドライバー異常については、本コホートのみの解析では、症例数が少なく同定できなかった。生殖細胞系列の変異については、Wilms 腫瘍の 11% で Cancer predisposition gene の病的変異を同定したが、いずれも既知の遺伝子であった。1 例で *REST* の機能喪失変異を認めたが、これは本邦においては初の症例である。

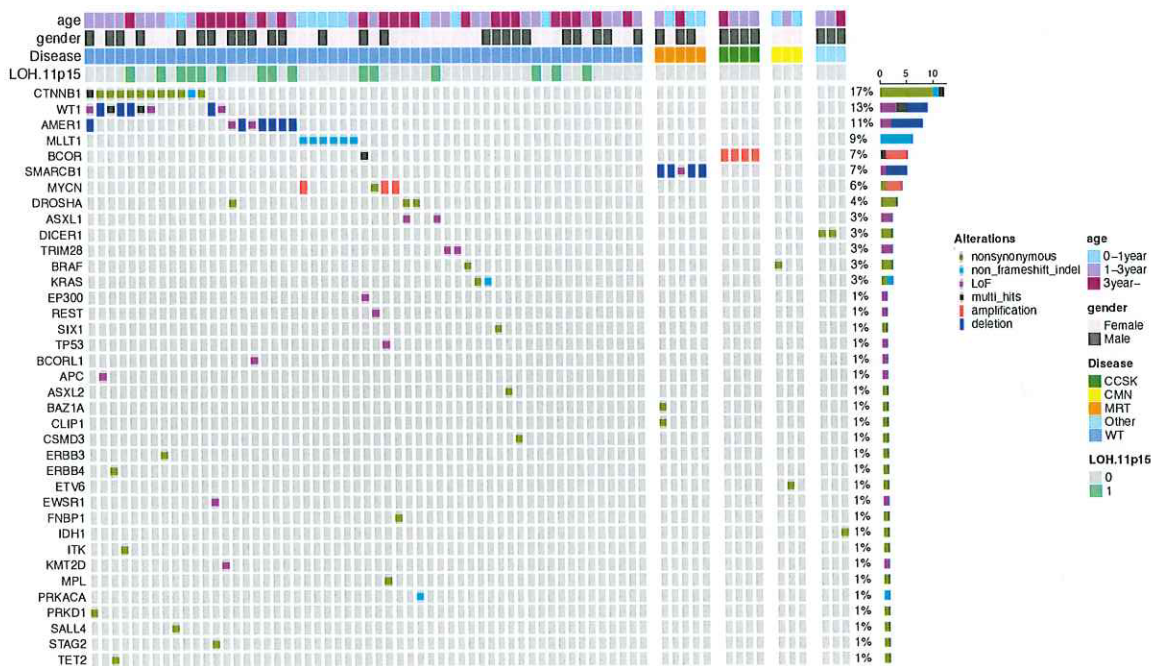


図 2. 本邦の小児悪性腎腫瘍におけるドライバー異常の分布

② Wilms 腫瘍を対象とした公開データとの統合解析

(i) SNV/Indel 解析

WGS (n=353) と全エクソーム解析 (n=54) で検出された SNV/Indel に基づき、dN/dS の手法を用いてドライバー遺伝子の候補を予測した。dN/dS 法で有意とされた大部分の遺伝子は Wilms 腫瘍で既知のドライバー遺伝子であったが、これまで Wilms 腫瘍との関連が明らかでない複数の遺伝子が dN/dS で有意に正の選択を受けていると判定され、新規ドライバー遺伝子の候補と考えられた (図 3)。

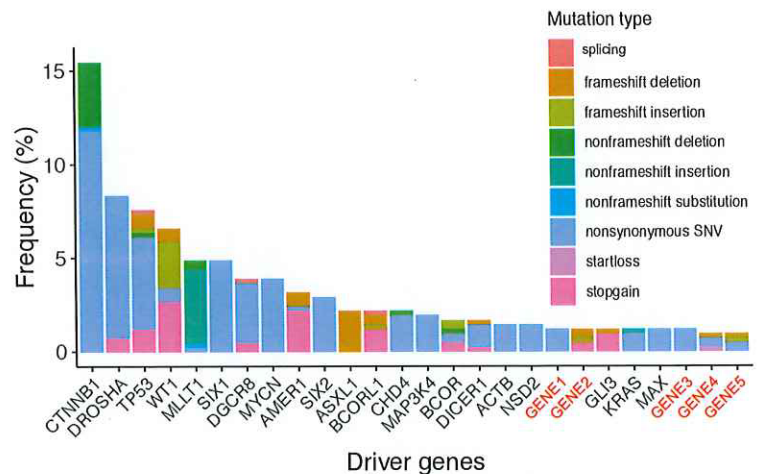


図 3. Wilms 腫瘍のドライバー遺伝子と頻度

(ii) CNA 解析

FACETS で解析できた 262 例の CNA について GISTIC2.0 を用いて二次解析を行い、arm-level と focal-level でのコピー数異常の集積性を評価した。arm-level の変化は、既報にある 1q, 6, 12 の増幅や、1p, 4q, 16q, 17p, 11, 14, 22 などの欠失が本研究でも再現された (図 4A)。focal-level の異常については、増幅のピークを *MYCN* に認めた。欠失のピークは、既知の Wilms 関連のがん抑制遺伝子に一致して見られた (図 4B)。

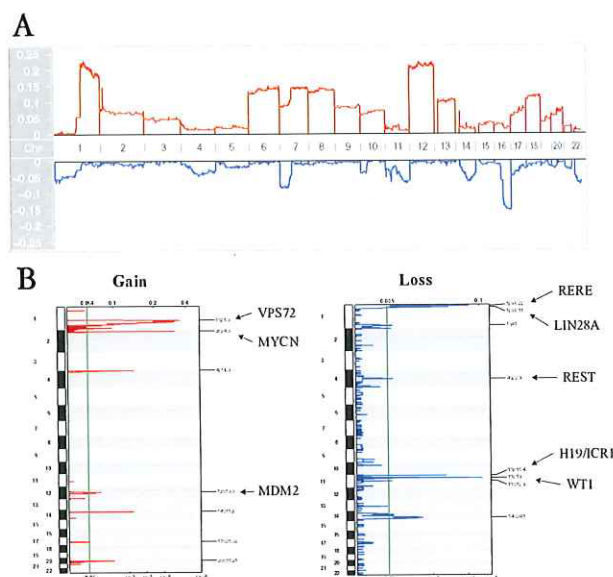


図 4. Wilms 腫瘍のコホートレベルでのコピー数解析

(iii) SV 解析

GRIDSS で解析できた 279 例の SV について、全ゲノム領域を 0.5Mbp の bin で区切り、breakpoint の集積性を評価した。*MYCN* の増幅や *WT1*、*AMER1*、*GPC3* の欠失を認めた (図 5)。

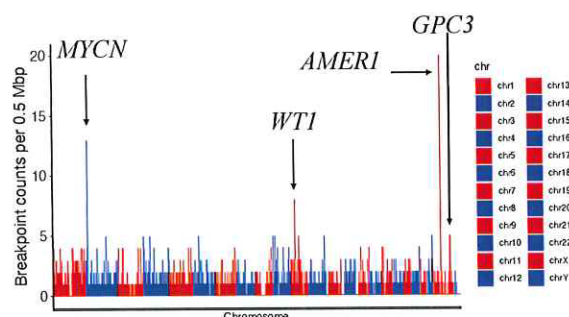


図 5. Wilms 腫瘍における構造異常の breakpoint の集積

5) 考察

本邦の小児悪性腎腫瘍の遺伝学的な landscape を明らかにした。また、Wilms 腫瘍については、本邦の Wilms 腫瘍患者のデータと既存の公開データと統合することで、過去最大規模のコホートとして解析を行い、新規ドライバー遺伝子の候補を複数発見した。

(2) 今回の結果成果を、今後の研究にどのように役立てたいと考えているか

本研究により Wilms 腫瘍における新規ドライバー遺伝子に候補を複数同定することができた。これらが真にがんのドライバーとして機能しているか、予後や経過と関連するか、そして治療標的となりうるかについて今後検討する必要がある。今後は細胞株やマウスを用いた機能解析を進める、あるいは、臨床情報と統合して解析を行うことで、本研究の成果をさらに前進させ、Wilms 腫瘍の病態解明、予後改善に貢献していきたいと考える。

最後になりましたが、今後とも、小児がん患者の予後改善を目指した研究に取り組んでまいります。改めて、本助成に深く感謝申し上げます。