

研究報告書

特定課題：小児がん

(平成25年度)

平成 28 年 3 月 3 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 高山昭三 殿

研究施設 東京大学大学院医学系研究科
生殖・発達・加齢医学 小児科

住 所 東京都文京区本郷7-3-1

研究者氏名 滝田 順子



(研究課題)

難治性小児固形がんにおけるがん細胞の時空的クローン進化の解明

平成26年2月5日付助成金交付のあった標記指定課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

研究目的

小児がんの中でもとりわけ、初発時から遠隔転移を伴う固形腫瘍、また再発を来すものは極めて難治性であり、5年生存率は概ね30%程度である。従って、遠隔転移・再発例に特化した新たな治療戦略が必要と考えられるが、そのような新規治療法を裏打ちする小児がんの分子病態の研究は、国内外の動向をみてもその希少性から、成人がんに比べて著しく立ち遅れているのが現状である。一方、近年のゲノム解析技術の飛躍的な向上により、再発や転移にはその一部の細胞のクローン進化(クローナルエボリューション)が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。従って、がんの再発・転移の機序を解明するためには、がん細胞の多方向性かつ時空間的なクローン進化の理解が重要と考えられる。そこで、本研究では、次世代シーケンサー、高密度マイクロアレイといった革新的ゲノム解析技術を用いて、小児固形がんの初発、転移、再発腫瘍のクローン進化を細胞レベルで経時的かつ網羅的に解析し、再発や転移を規定する分子病態の解明を試みる。

研究方法

難治性小児腫瘍の代表である横紋筋肉腫の初発、転移・再発腫瘍および正常組織の検体を用いて、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を行い、腫瘍細胞特異的な変異を抽出する。次に、有用な変異につき deep sequencing を行い、腫瘍内の heterogeneity やクローナルエボリューションの解明を試みる。また、SNP アレイを用いて、ゲノムコピー数の網羅的解析も行い、ゲノムコピー数に関する heterogeneity について検討する。

結果

1) 横紋筋肉腫における全ゲノム解析

初発および再発、転移巣が得られた3例(A4, A11, A14)の胞巣型横紋筋肉腫症例において全ゲノムシーケンス解析を行った。exon領域の変異は1サンプルあたり16-132個であり、intron領域の変異は1サンプルあたり4000-13000個であった。これらの症例はexom解析も行っているが、exon領域の変異はexom解析で検出されなかったものも複数含まれていた。それぞれ初発および再発、転移巣に共通する変異に加えて、独立した変異も散見された。

サンプルごとに重複する変異数は異なる割合であった。

2) 横紋筋肉腫におけるゲノムコピー数の解析

横紋筋肉腫胞巣型の1例(A14)で初発、肝転移巣の比較、2例(A4, A11)で初発、再発の比較を行った。A14では原発巣のほとんどの変化が転移巣にも認められ、新たに18pの増幅が加わっていた。A4も同じく初発の変化は全て再発に持ち越されており、20番染色体の増幅が再発時には加わっていた。この2例とは対照的にA11では*PAX3-FOXO1*の不均衡転座を表す2qと13pのテロメア側の増幅のみが引き継がれているが、それ以外は11番染色体の uniparental disomy、1q増幅を含め、初発にみられた変化は再発には認めず、8p増幅、9qの部分増幅、20番の増幅や、*TP53*を含む17pの欠失など再発独自の変化を認めた。A4、A11では再発時に20番染色体の増幅が新たに加わる点が共通していた。

考察

再発との比較を行った3例のうち1例では、*PAX3-FOXO1*の不均衡転座を示す所見以外は初発の変化は再発に持ち越されておらず、再発巣独自の変化を示した。特記すべきは、横紋筋肉腫において11pのLOHは特徴的な所見であるが、この症例では初発にあった11 LOHが再発には認められなかったことである。このことから推察されるクローンの進化は、*PAX3-FOXO1*が先に生じ、その後、11 LOHを生じたクローンとないクローンに分かれ、転座と11 LOHを両方持つ細胞が初発時はmajorクローンだったが、再発時には初発時は少数派だった11 LOHがないクローンがmajorクローンとなったと考えられる。また同時に、初発時のmajorクローンは治療に感受性があったが、この再発クローンは治療抵抗性であったとも考えられる。11p LOHは横紋筋肉腫における頻度が高く、腫瘍の発生に関わると考えられているが、今回の結果からは再発といった進展には関与しない可能性が示された。これは今回の解析で11 LOHは予後との相関がなかったこととも一貫している。対照的に*PAX3-FOXO1*はより早期に生じ、コピー数変化からは再発時に唯一 selection されており、この転座が胞巣型横紋筋肉腫に与える影響が強力であることが示唆された。