

研 究 報 告 書
令和 3 年度：A 課題

2023 年 5 月 16 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 国立がん研究センター中央病院

住 所 東京都中央区築地 5-1-1

研究者氏名 小倉 浩一

(研究課題)

再発高リスク変異を有する Ewing 肉腫の病態解明および新規治療標的の探索

令和 4 年 3 月 10 日付助成金交付のあった標記 A 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

Ewing 肉腫は小児に好発する極めて予後不良な肉腫で、日本での年間発症数は 100 人未満と代表的な希少がんである。近年の次世代シークエンス研究により、Ewing 肉腫のドライバー遺伝子である EWS-FLI1 融合遺伝子に加えて、まれではあるが TP53, CDKN2A, STAG2, ERF などの二次変異が認められ、これらの二次変異を有する症例が予後不良であることを示唆する報告がある。これらの報告は欧米の少数例のデータに基づく知見であり、しかも各々の変異の頻度は全症例の 5-10%程度であることから、これらの変異の Ewing 肉腫における予後への影響を含めた臨床的意義の解明は未だ緒についたばかりである。したがって、これらの変異の臨床的意義の解明および新規治療開発への応用の可能性の探索は今後の極めて重要な課題である。

そこで、本研究では以下の目標達成を目指す。

1. Ewing 肉腫における二次変異のアジア人における正確な頻度を検討する
2. 米国 MSK との共同研究で、MSK-IMPACT に登録されている症例と本邦の症例を統合し、Ewing 肉腫における二次変異の予後への影響を含めた臨床的意義を解明する

研究方法

1. MSK-IMPACT に登録された 100 例の Ewing 肉腫のシークエンスデータおよび臨床データを解析し、予後不良に関連する変異を同定する。
2. C-CAT に登録されている Ewing 肉腫のクリニカルシークエンスのデータを解析し、上記の二次変異について日本人における変異プロファイルを明らかにし、同時に骨軟部腫瘍ゲノムコンソーシアム (JSGC) との連携により、全国規模でのより多数の試料の収集を行う。

結果と考察

1) MSK-IMPACT に登録された 113 例の Ewing 肉腫のシークエンスデータおよび臨床データの解析

Ewing 肉腫においては、EWSR1 遺伝子、ETS ファミリー転写因子群との間に融合が必要であり、染色体転座による異常転写因子産生が腫瘍発生に中心的な役割を担う。特に EWSR1-FLI1 融合遺伝子、EWS-ERG 融合遺伝子は Ewing 肉腫の非常に強いドライバー遺伝子として知られており、その他の二次変異は極めてまれであるといわれている。

MSK-IMPACT に登録された 113 例の Ewing 肉腫のクリニカルシークエンスのデータを解析したところ、新規の遺伝子変異を同定した。具体的には ETS domain transcriptional repressor をコードする ERF 変異 (7%)、FGFR1 変異 (2.7%) などである。これらは、従来予後不良との関連が指摘されていた STAG2 変異とは相互排他的であった。特に ERF 変異はサンプルサイズの問題で統計学的に有意ではなかったものの、予後不良と相関していた。

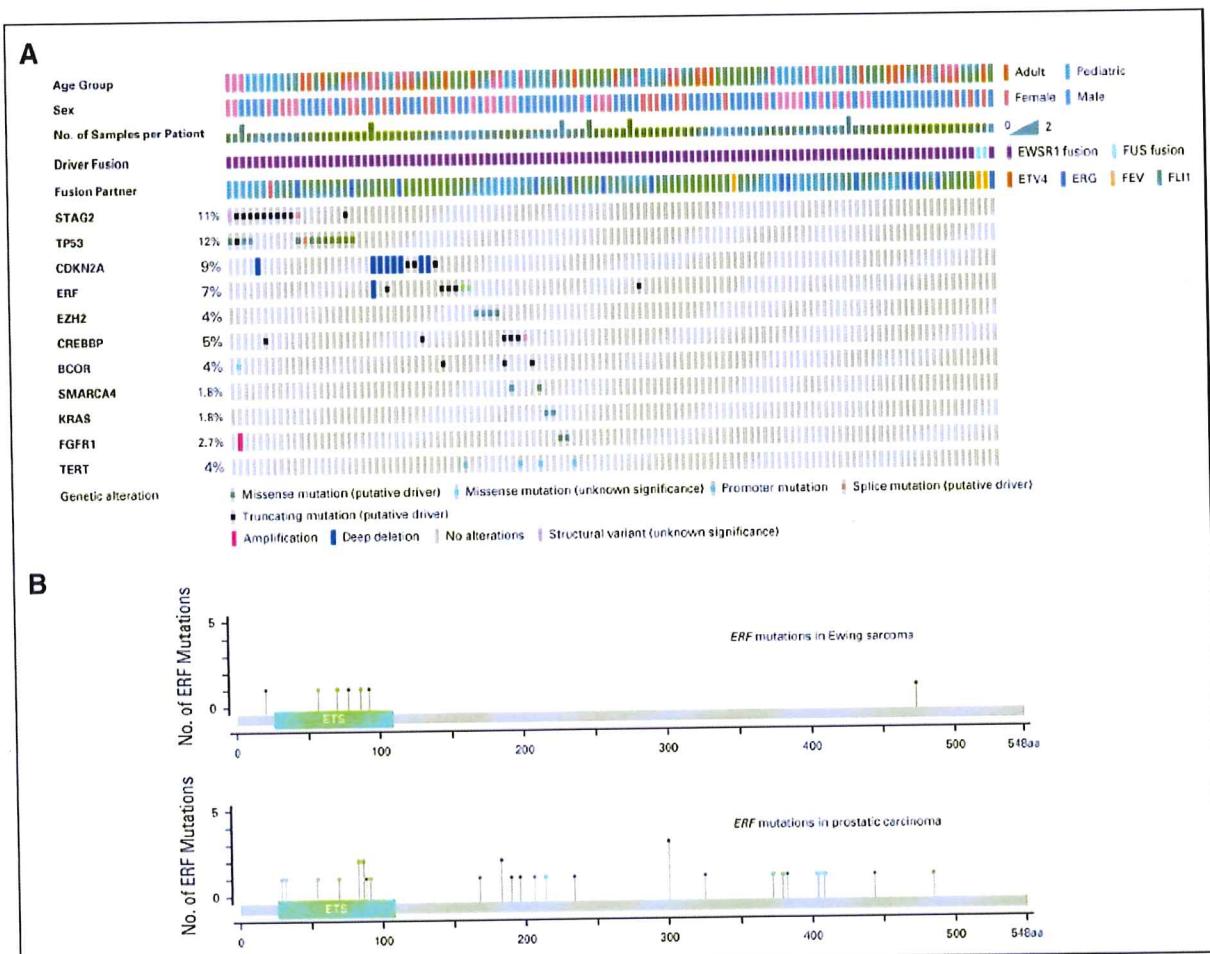


図 1. Ewing 肉腫における変異プロファイル(A)と新規に同定した ERF 変異(B)

また、*in vitro* の解析では ERF をノックダウンした細胞株において、細胞増殖が亢進し、ERF を過剰発現した場合は逆に細胞増殖やコロニー形成が減少することが明らかになりました。ERF の機能喪失が Ewing 肉腫のより aggressive な表現型に関与することが示された。また、*in vivo* の検討においても同様に ERF の機能喪失が Ewing 肉腫のより aggressive な表現型に関与することが示された [1]。

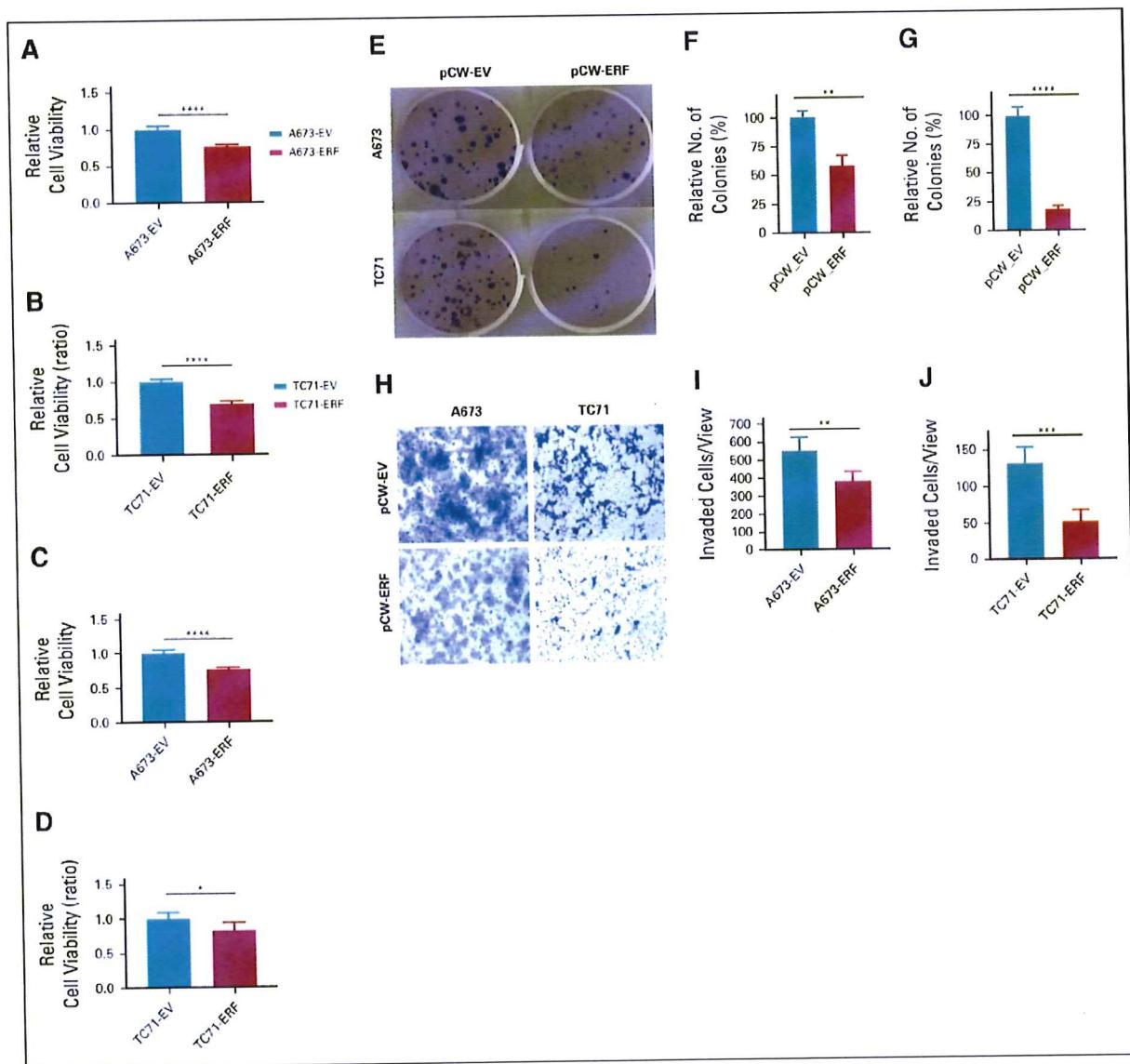


図 2. ERF 過剰発現により、Ewing 肉腫の細胞増殖やコロニー形成能、浸潤能は抑制される

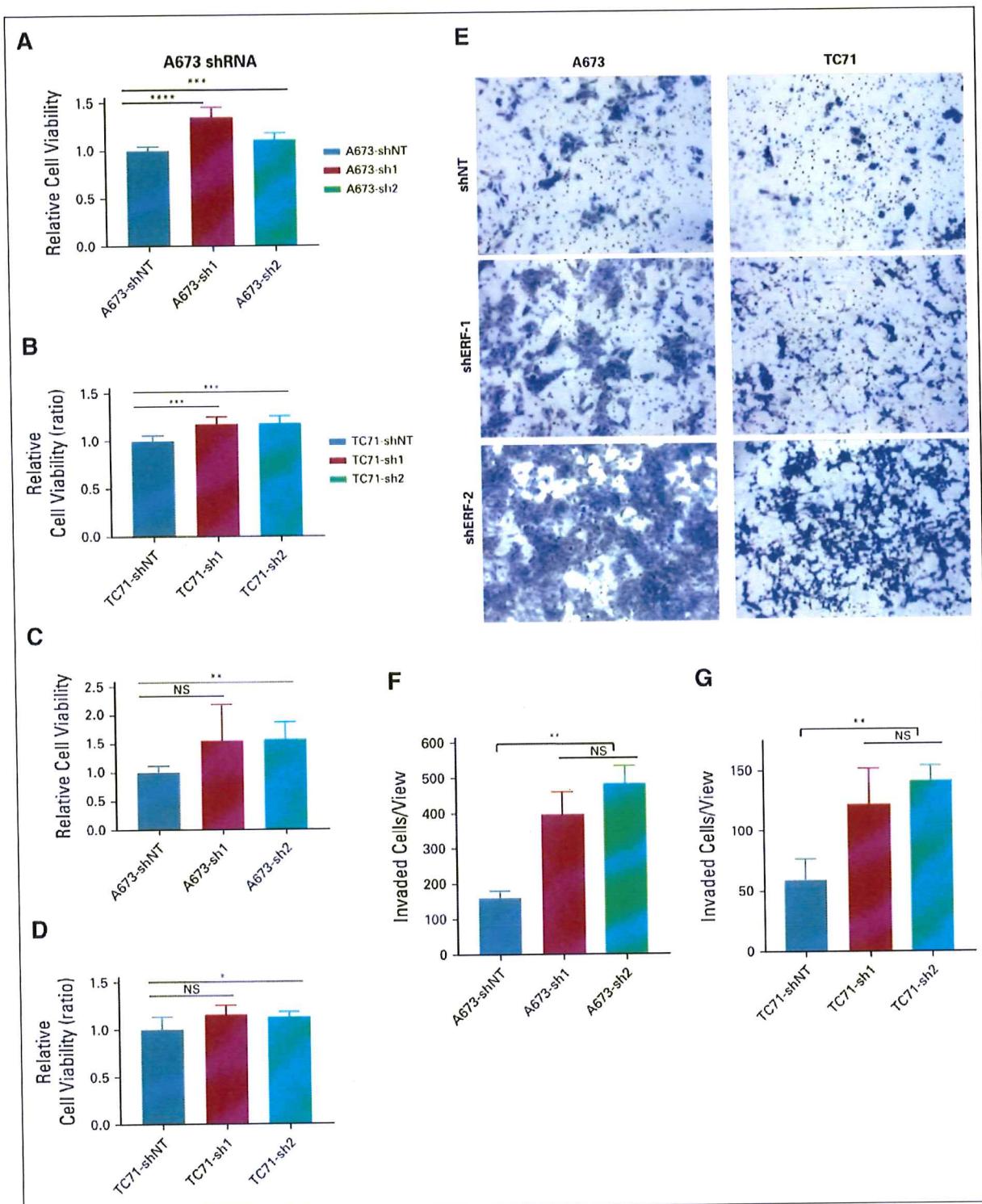


図3. ERF ノックダウンにより Ewing 肉腫の細胞増殖や浸潤能は亢進し、より aggressive な表現型となる

2) 日本人における Ewing 肉腫の変異プロファイルの同定

Ewing 肉腫は白人に好発することが知られており、genotype においても人種差がある可

能性があるため、日本人における Ewing 肉腫の変異プロファイルを同定するために、まずは C-CAT データベースに登録されている Ewing 肉腫 54 例の解析を行った。FGFR1 変異は 3 例（5.6%）と米国におけるデータよりも頻度が高く、さらに FGFR4 の変異も 1 例（1.8%）に認め、合計 4 例（7.4%）において FGFR（線維芽細胞増殖因子受容体）の変異を認めた。

FGFR 遺伝子異常は、がん細胞の増殖などに関与する治療標的であり、本邦においても、「FGFR 遺伝子異常を有する進行・再発固形がんに対する E7090 単剤療法の多施設共同第 II 相医師主導治験」（試験名称：NCCH2006、FORTUNE 試験）が進行中である。難治性であった Ewing 肉腫の一群において、FGFR 阻害剤の治療の可能性が示された。

一方で、C-CAT に登録されているクリニカルシークエンスのデータは、大部分は Foundation One CDx を用いたシークエンスであり、同遺伝子パネルが ERF 遺伝子をカバーしていないため、我々が示した ERF 変異の臨床的意義 [1] は、C-CAT データでは再現できなかった。

そこで、我々は骨軟部腫瘍ゲノムコンソーシアム（JSGC）の事務局との研究ミーティングを行い、参加施設のリクルート、試料の集積方法について協議し、引き続き JSGC との連携により、全国規模で多数の試料を収集し、集積が完了した段階で Ewing 肉腫の変異プロファイルに基づいたターゲットシークエンスを行い、アジア人におけるより網羅的な遺伝子変異プロファイルを明らかにする予定である。ここで同定された予後不良に関する可能性のある二次変異に関しては、同変異を有する細胞株における *in vitro* の解析を通して、治療標的の同定を行い、有効な新規治療開発への応用の可能性を探る予定である。

文献

- Ogura K, Elkrief A, Bowman AS, Koche RP, Benayed R, Mauguen A, Mattar M S, Khodos I, Stanchina E, Meyers PA, Healey JH, Tap WD, Shukla N, Hameed M, Zehir A, Sawyers C, Bose R, Slotkin E, Ladanyi M. Prospective clinical genomic profiling of Ewing Sarcoma: ERF and FGFR1 mutations as recurrent secondary alterations of potential biological and therapeutic relevance. *JCO Precis Oncol*, 2022 Aug;6:e2200048. doi: 10.1200/PO.22.00048.