

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「分子プロファイリングによる新規標的の同定を通じた難治がん治療法開発」
(悪性脳腫瘍克服のための新規治療標的及びバイオマーカーの創出)
2. 研究開発代表者： 齊藤 延人 (国立大学法人東京大学医学部 脳神経外科 教授)
3. 研究開発の成果

本研究において、低悪性度神経膠腫から再発・悪性転化を遂げた 55 症例の、初発時と再発時の計 130 腫瘍検体のゲノム異常を経時的に比較解析を行った。これにより、悪性転化に伴い腫瘍に認める遺伝子異常が劇的な変化を遂げる **branched evolution** の形式をとる症例が多数存在することが明らかとなった。びまん性星細胞腫の悪性転化に伴い、初発時と共通に認める遺伝子変異は、IDH 遺伝子変異、TP53 遺伝子変異、ATRAX 遺伝子変異と少数の遺伝子が中心であった。また、標準的な化学療法剤であるテモゾロマイドによる治療後に悪性化した神経膠腫症例の半数以上において、顕著な遺伝子異常の蓄積を認める **hypermutator phenotype** へと、がん細胞が進化を遂げているという事実が確認された。この悪性化を遂げた再発腫瘍では、がん細胞増殖の活性化をきたすようなゲノム異常が多数生じ、そのなかでも特に AKT-PI3K 経路の活性化や RB 経路の破綻が顕著に生じており、これが悪性転化に関与していることが考えられた。また、**hypermutator** となった腫瘍では、ほぼ必ず DNA ミスマッチ修復遺伝子の変異が生じていることが明らかとなり、これらも **hypermutator** となった腫瘍のバイオマーカーの候補としてあげられた。メチローム解析においては、悪性転化に伴い、特定のゲノム領域の脱メチル化生じていることが明らかとなった。

既知の遺伝子変異を有さない (**triple negative**) 低悪性度神経膠 28 症例のうちエクソーム解析にて IDH 遺伝子変異が発見された症例などを除くと、真に **triple negative** といえた症例は 18 症例であった。これらの症例の病理中央診断を行ったところ、膠芽腫、退形成性星細胞腫、毛様細胞性星細胞腫と診断される症例が 8 例に及び、本当の **triple negative grade II glioma** は、予想よりもかなり低頻度であることが明らかとなった。遺伝子解析にて **triple negative** と判定されたグレード II 神経膠腫には、病理学的には、本来はそれ以外に分類されるべき症例が多く含まれている可能性が明らかとなり、病理診断上の問題点が示された。また、残りの症例数 (10 例) のエクソーム解析では、腫瘍化に重要と思われる新規の **recurrent** な遺伝子変異は同定されず、これらは多様な腫瘍集団であることが示唆された。

胚細胞腫研究においては、197 例の胚細胞腫 (原発性頭蓋内胚細胞腫 124 例、転移性胚細胞腫 8 例、精巣胚細胞腫 65 例) に対して行ったエクソームシーケンスと標的シーケンスの結果、KIT を中心とした MAPK 経路と MTOR をはじめとした PI3K 経路の異常が胚細胞腫において組織型や発生部位に関わらず高頻度に認められることを発見し、また変異 MTOR が活性型がん遺伝子であることと、その活性化が MTOR 阻害剤により抑制されることを示した。頭蓋内胚細胞腫に対するゲノムワイドメチル化解析の結果では、**germinoma** において全ゲノム的に広範な脱メチル化が見られることが明らかとなった。RNA シーケンスの結果では、**germinoma** の発現プロファイルは **primordial germ cell (PGC)** と、**NGGCT** は **embryonic stem cell (ESC)** とそれぞれクラスターし、主成分分析を行うと、**germinoma** は PGC と、**NGGCT** は ESC とそれぞれクラスターすることが明らかとなった。また融合遺伝子 X が複数の腫瘍で発見され、多数の胚細胞腫でスクリーニングを行ったところ、正常細胞や他のがん種にはほとんど認められないが、**germinoma** の 60%以上、**yolk sac tumor** の全例と極めて高頻度に融合遺伝子 X を認めていた。