

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：小児固形腫瘍とリプログラミングの破綻：発がん機構解明から臨床応用へ
2. 研究開発代表者：中川原 章（地方独立行政法人佐賀県医療センター好生館）
3. 研究開発の成果

近年、班員の山田らは、リプログラミングに失敗した細胞から小児がんに類似したがんが発生することをマウスの系で発見した。そこで、本年度は、神経芽腫、腎芽腫、肝芽腫、横紋筋肉腫およびユーイング肉腫に対して、以下のような開発研究を行った。

1) 小児がん発生と細胞初期化に関する研究

腎芽腫、肝芽腫の臨床検体を使用し、多能性関連因子の発現をマイクロアレイにより検討した。多能性幹細胞と類似した遺伝子発現パターンを示す肝芽腫の存在が確認され、細胞リプログラミングが一部の肝芽腫発生に関与し、治療標的となりうることが示唆された。

2) NCYMによる神経芽腫のリプログラミングとその臨床応用

細胞リプログラミングと神経芽腫の発生および悪性度との関連性を調べるため、がん幹細胞と性質の似たI-type ヒト神経芽腫株SH-IN細胞を用いて4つの初期化細胞因子を導入し、初期化細胞の作成に成功した。この初期化細胞では、初期化因子の他に、Lin28と hTERTと神経芽腫の悪性度を上昇させる遺伝子の発現も上昇していることがみられ、神経芽腫の浸潤能の促進に関与することが示唆された。

3) 腎芽腫の発生や進展を制御する標的分子の同定

腎芽腫のSNPアレイCGH解析を30例追加した。miRNA合成遺伝子であるDROSHAの変異を2例に認めた。miRNA合成遺伝子の変異・欠失の頻度はIGF2-LOI腫瘍において、非IGF2-LOI腫瘍より高かった。また、網羅的遺伝子発現解析により、がん遺伝子CDK4は、正常腎組織や非+12型腫瘍に比して+12型腫瘍でより高発現していた。抗CDK4阻害剤の適応を示唆する所見を得た。

4) 肝芽腫のエピジェネティクス解析

肝芽腫では、細胞株と臨床検体を用いて、ゲノム解析および遺伝子発現解析さらにメチル化解析を行い、肝芽腫の発生、進展のバイオマーカーの探索を行った。肝芽腫の発生には、HNF4aの発現亢進とADAM遺伝子群の関与が、進展にはNRF2, ADAM遺伝子群の関与が見出された。また、肝芽腫におけるメチル化の程度が腫瘍の悪性度に関連することが示唆された。

5) 胞巣型横紋筋肉腫細胞におけるエピジェネティックな分化制御の確認、および治療法の開発

複数の胞巣型横紋筋肉腫細胞株でもPAX3-FOXO1キラー遺伝子とCDK4/6のノックダウンで筋分化が誘導できることを確認した。また、PAX3-FOXO1安定ノックダウン株では薬剤のみで筋分化誘導できることを明らかにした。さらに、エピジェネティクス治療薬であるHDAC阻害剤がPAX3-FOXO1の発現を抑制すること、HDAC阻害剤とCDK4/6阻害剤の組み合わせで筋分化および老化を誘導することが確認できた。

6) ユーイング肉腫のエピジェネティクス解析

ユーイング肉腫細胞において腫瘍特異的融合遺伝子であるEWS/FLI1をノックダウンしたところ、リプログラミング因子SOX2、KLF4は発現上昇、MYCは発現低下することを見いだした。また、総アセチル化ヒストンH3K27量の低下が観察された。これらの結果からは、EWS/FLI1発現が直接あるいは間接的にクロマチン修飾に影響し、標的となる遺伝子の発現を制御し、腫瘍発生にエピジェネティックな要因が関与することが示唆された。

以上の研究成果により、細胞リプログラミングとDNAメチル化の異常などエピジェネティックな要因がヒト小児固形腫瘍の発生および進展・悪性度に関与することが示唆された。今後、リプログラミングの破綻における発がんメカニズムを明らかにし、エピジェネティクス異常に関わりかつ有意に動く新しい予後予測マーカーや創薬に繋がる標的分子の発見を目指して研究を推進し、治療応用への可能性を検討する。