

## 中枢神経胚細胞腫におけるゲノム構造異常解析

東京大学医学部附属病院 脳神経外科  
高見浩数

### 【背景】

中枢神経胚細胞腫は小児脳腫瘍の14%を占め、神経膠腫に次いで2番目の頻度である。欧米の3-4倍の頻度であり、かつ欧米では手術も避けられる傾向にあるため、腫瘍検体へのアクセスにおいて有利であり研究において日本が秀でている。日本では2012年に中枢神経胚細胞腫ゲノム解析コンソーシアム(iGCTコンソーシアム)が創設され、これまでに日本全国33施設から327の凍結検体、FFPE、臨床情報が集積されている。さらに日本小児がん研究グループ(JCCG)の固形腫瘍観察研究にて178症例が登録されている。病態解明の研究を行うための環境が整っている。

中枢神経胚細胞腫は小児～若年成人の松果体、視床下部に好発する。ジャーミノーマと非ジャーミノーマの大きく2つに分けられ、後者は卵黄嚢腫、絨毛癌、胎児性癌、奇形腫の亜型に分類される。約30-40%にこれらの混在性腫瘍がある。ジャーミノーマは放射線・化学療法に反応が良いが非ジャーミノーマは治療抵抗性で長期治療成績が不良である。さらに小児～若年成人に発生することから、放射線化学治療による長期合併症が深刻で、二次がん、脳血管障害、内分泌異常、高次脳機能障害などが成人以降に発生する。放射線化学療法に代わる治療が求められている。

これまでに申請者らはwhole exome sequenceにて遺伝子変異解析を行い、MAPK経路(48%)とPI3K経路(13%)に変異が見られることを報告した。しかし病態解明は不十分であり、ゲノム全体についての解析と同時に、構造異常解析を行う必要性があると考えられた。最終的には標的治療(*NTRK*融合遺伝子に対するエヌトレクチニブなど)を実現できるように、全ゲノム解析とロングリードシーケンシス解析によってより広く、より深くゲノム解析を行うこととした。

### 【対象と方法】

全ゲノム解析(ショートリードシーケンシス)とロングリードシーケンシス解析を行った。全ゲノム解析はiGCTコンソーシアムから35例とJCCGから30例の合計65例、ロングリードシーケンシス解析はiGCTコンソーシアムから25例とJCCGから8例の合計33例で行った。

全ゲノム解析65例のうち、ジャーミノーマは36例、非ジャーミノーマは29例であった。ロングリードシーケンシス解析33例のうち、ジャーミノーマは7例、非ジャーミノーマは26例であった。

全症例について凍結腫瘍検体からDNAを抽出、同一患者の血液からもDNAを抽出して腫瘍と血液のDNAのペアで両解析を施行した。全ゲノム解析はIllumina社のHiSeq 2000にてシーケンシスを行った。ロングリードシーケンシス解析はOxford Nanopore Technologies社のロングリードシーケンサーPromethIONを用いてシーケンシスを行った。

臨床検体の解析については、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(旧医学系指針)に準拠した研究計画が東京大学の倫理委員会で審査され承認されている(受付番号G10028)。また中枢神経胚細胞腫ゲノム解析コンソーシアム(iGCTコンソーシアム)、日本小児がんグループ(JCCG)に集まった既存検体・試料を用いる場合には、「医学系指針」第5章第12の1 (2)、(3)、(4)、および「ゲノム指針」第5の11、14および15に基づき、必要な要件に該当することについて、参加する各施設の倫理審査委員会の承認を得て、研究を行う機関の長の許可を受け、当該試料を利用した。

## 【結果】

### 全ゲノム解析

65例中53例(82%)で何らかのドライバー変異が同定された(図1)。特に65例中47例(72%)でRAS/MAPKまたはmTOR/Akt経路の異常が見つかった。過去のwhole exome sequenceでは53%とされており、全ゲノム解析によって検出率が向上した。ジャーミノーマでは36例中29例(81%、whole exome sequenceでは71%)、非ジャーミノーマでは29例中18例(62%、whole exome sequenceでは33%)で検出された。また、組織型(ジ

図2 組織型による遺伝子変異の種類の違い

ジャーミノーマまたは非ジャーミノーマ)によって遺伝子変異の種類が異なることも分かった(図2)。

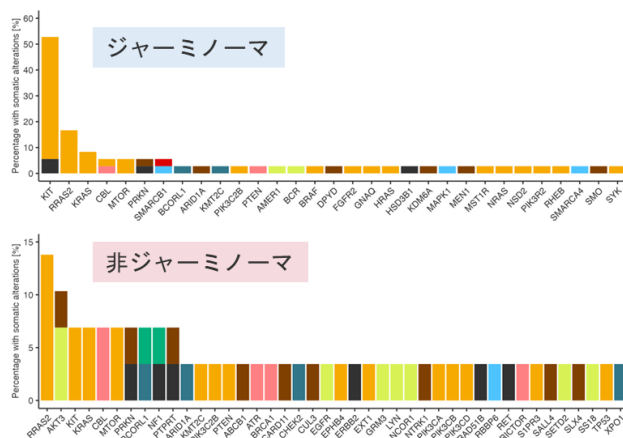
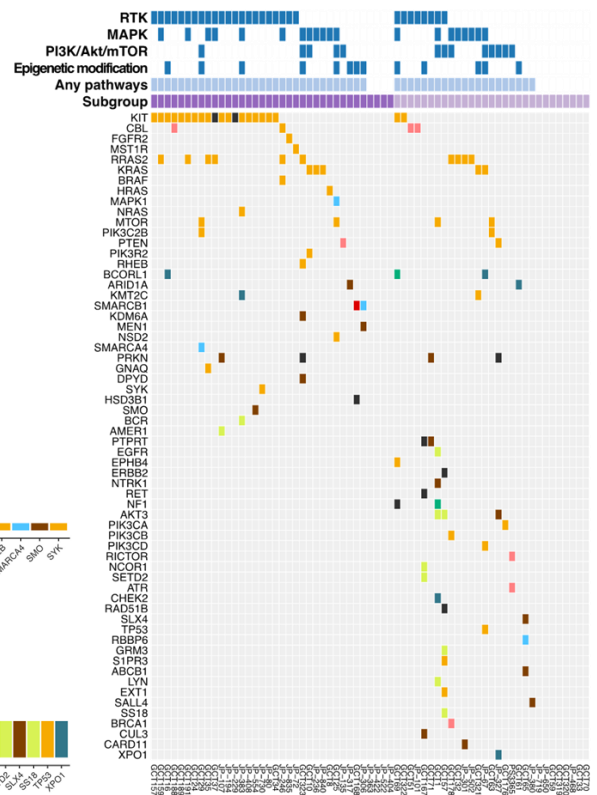
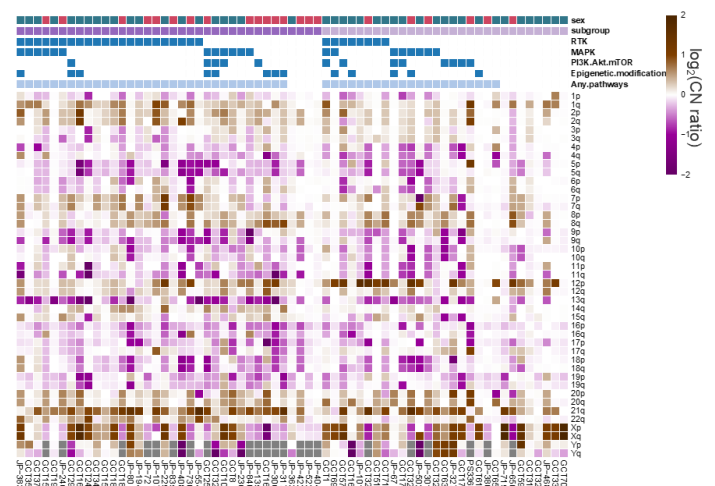


図1 全ゲノム解析による遺伝子変異プロット



Tumor mutation burden (TMB)の中央値はジャーミノーマ、非ジャーミノーマともに0.24/Mbであり、いわゆるTMB highの症例はなかった。Signature解析をSigProfilerで行ったところ、ほとんどの症例がSBS1 (clock-like)が優位となり、一部でSBS17が見られた。コピー数解析はCNVkitで解析した。FACETSで推定した腫瘍含有率で補正した。染色体1q, 12p, 21q, Xのgainと13qのlossが最も多く見られた(図3)。

図3 染色体コピー数解析の結果



生殖細胞系列の解析においては、XXYの染色体を有する症例が2例(3.1%)に見られ、Klinefelter症候群と考えられた。

## ロングリードシーケンス解析

1例において*USP28*遺伝子に約2000bpの欠失を認めた(図4)。Exon1-2にかかる部分でcoding領域にかかるため、機能欠失となると考えられた。*USP28*はがん抑制遺伝子の性質を持つものとされており、病態意義のあるものと解釈される。

図5 *NTRK2*における*LINE1*挿入の例



図4 *USP28*におけるdeletionの例



1例で*NTRK*遺伝子における融合遺伝子(*LINE1*の挿入)を同定した(図5)。Exon2と3の間に245bpが入る構造異常であった。*NTRK2*の融合遺伝子は下流のMAPK, PI3K/Akt/mTORシグナル伝達経路を活性化することが知られ、*NTRK*標的治療薬が薬事承認されている。

その他、*PRKN*への*LINE1*の挿入や欠失を4例、*SMARCA4*の欠失を1例と構造異常を同定した。

## 【考察】

中枢神経胚細胞腫のゲノム解析はiGCTコンソーシアムからのwhole exome sequenceが2016年に発表(Ichimura K. et al. *Acta neuropathol.* 2016)されて以来、世界的に見ても進んでいなかった。Whole exome sequenceでは全体の約半数(53%)に*KIT*変異を代表とするRAS/MAPKまたはmTOR/Akt経路の遺伝子変異があることを報告していたが、一方で半数弱の例は遺伝子変異を認められずに病態に未解明な部分が残っていた。

今回の全ゲノム解析において、RAS/MAPKまたはmTOR/Akt経路だけではなく、エピゲノム関連遺伝子にも変異を認め、合計で82%の症例で何らかのドライバー遺伝子変異を認めることができた。また、ジャーミノーマと非ジャーミノーマという組織型の違いによって異なる遺伝子変異パターンを認め、病態解明が大きく進んだと言える。

小児腫瘍に特徴的で、遺伝子変異があまり集積しないという特徴もわかった。Tumor mutation burdenが多くの場合1/Mb以下と少なく、この点においては免疫チェックポイント阻害薬の効果は低い可能性が示唆された。しかし胚細胞腫の腫瘍微小環境には多くの免疫細胞が存在していることが、遺伝子発現解析やRNA in-situ hybridizationによる解析にて報告されており(Takami H. et al. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2020, Takami H. et al. *Neuro Oncol* 2020)、組織における腫瘍免疫の特徴については空間トランスクリプトーム解析にて更に解明を行う必要がある。

ロングリードシーケンスではショートリードシーケンス(全ゲノム解析)では見つけることのできない大きな欠失、挿入を同定した。33例中7例(21%)で何らかの構造異常を認め、それらの病態意義は今後の解析が必要であるが、ゲノム解析による病態解明がさらに進んだと言える。

## 【結論】

研究助成によりゲノム解析がさらに大きな進歩を遂げ、小児の胚細胞腫患者さんたちへ放射線化学療法に代わる標的治療への道筋が今後開けると期待される結果を得られた。