

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22608

研究課題名（和文）小児がん患者における隠れcancer-predispositionの探索

研究課題名（英文）Investigation for hidden cancer predisposition in pediatric cancer

研究代表者

加藤 元博（Kato, Motohiro）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：40708690

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：小児がんのひとつである悪性ラブドイド腫瘍において、その発症に關与するSMARCB1遺伝子の変異が、16例中8例で生殖細胞系列に由来することを明らかにした。このうち3例は、モザイクとして低頻度に存在し、従来の解析では見逃され過小評価となっていた可能性が考えられた。また、小児造血器腫瘍に横断的にみられる「7番染色体異常」を持つ造血器疾患の患者のGATA2、SAM9/9Lについて集中的に解析を行い、25例中10例でGATA2もしくはSAM9/9Lのバリエーションを背景としていることが明らかになった。これらの研究により、小児がんの発症や臨床経過において遺伝的な背景の役割が重要であることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これらの研究により、小児がんの発症や臨床経過において遺伝的な背景の役割が重要であることが確認された。

研究成果の概要（英文）：Intensive analysis of the SMARCB1 gene in malignant rhabdoid tumors (MRT) revealed eight of 16 patients with germline genetic variants. Three patients had mosaicism of the variants, which conventional methods might overlook. The prevalence of cancer predisposition in MRT may thus be higher than previously reported. We next focused on prevalence of germline variants of GATA2 and SAM9/9L in hematologic disorder with monosomy 7. A total of 25 patients were analyzed, and seven patients with a germline pathogenic GATA2 variant were found. For SAM9/9L screening, next-generation sequencing was used to detect low-abundance variants and found four novel germline variants. Functional analysis revealed that three out of the four variants showed functional abnormality. GATA2 and SAM9/9L were sequenced in 25 patients with pediatric hematologic disorders associated with -7, and 40% of them were found to have some pathogenic germline variants in the three genes.

研究分野：小児がん

キーワード：癌

### 1. 研究開始当初の背景

従来のがん研究で発がんの機序を解明するためには、がん細胞が後天的に獲得したゲノム異常 (somatic な変異) の探索が中心であったが、小児がんの病態においては、細胞が獲得した異常だけでなく、正常細胞 (すなわち、生殖細胞系列) の遺伝的背景が一定の割合で関与していることが知られるようになった。

この概念は、小児がんの病態研究の領域で急速に注目を集めているテーマであり、小児がんの4~8%の患者が cancer-predisposition の遺伝的背景を持ち、その好発がんの遺伝的体質が小児がんの発症に関連していることが分かり、「小児がん患者の発症に関する遺伝的背景は、従来想定されているよりも広く関与している」ことが明らかになってきた。

一方で、申請者は、最新のゲノム解析技術を用いてゲノム変異やゲノム構造異常の検出をおこなっており、高感度で正確にゲノム異常を検出する解析の成果を報告してきた。これまでの研究活動、すなわち「小児がんの発症には生殖細胞系列の遺伝的背景が関与している」と「ゲノム解析技術の応用により、鋭敏なゲノム異常の検出が可能である」という研究経験から、『鋭敏なゲノム解析技術を用いて検出することで初めて検出できるような低頻度モザイクのバリエーションが見逃されており、小児がん患者における遺伝的背景の関与の割合、すなわち「隠れ cancer-predisposition」の頻度はさらに多いのではないかと』という仮説に至り、本研究の着想に至った。

### 2. 研究の目的

本研究は、「小児がん発症者のがん細胞にみられる遺伝子変異は、体細胞変異 (獲得された後天的な変異) と考えられていたものでも、一定の頻度で、正常細胞にわずかに存在する生殖細胞系列細胞バリエーションに由来する」という仮説のもとに、鋭敏なゲノム解析手法を用いることで小児がん患者において低頻度モザイクでがん関連遺伝子にバリエーションを持つ「隠れ cancer-predisposition」の頻度を探索し、小児がんの発症における遺伝的背景についての理解を深めることを目的とする (図1)。

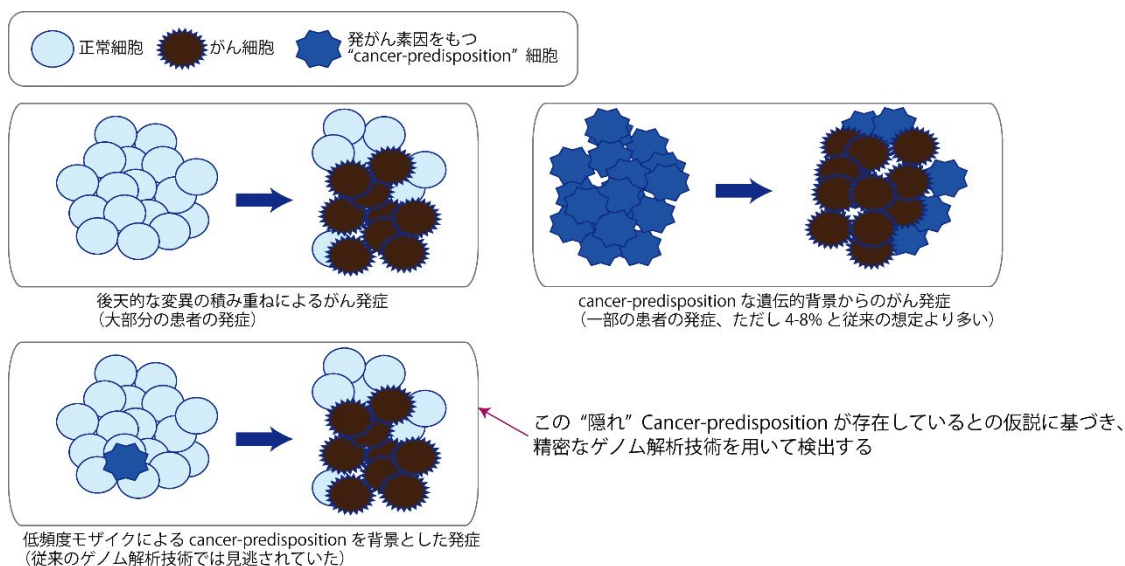


図1. 本研究の概念図

### 3. 研究の方法

#### (1) 悪性ラブドイド腫瘍の遺伝的背景

共同研究施設で悪性ラブドイド腫瘍 (MRT) と診断された0~18歳のうち腫瘍と生殖細胞系列の両方の検体が得られた16名を解析対象者とした。まず、腫瘍のSMARCB1遺伝子のゲノム異常を直接塩基配列決定法、Single nucleotide polymorphism (SNP)アレイ解析、droplet digital PCR (ddPCR)を用いて特定し、その由来が正常検体 (末梢血) にあるかどうかを ddPCR を用いて検証した。

#### (2) モノソミー7を伴う造血器疾患の遺伝的背景

モノソミー7を伴う小児造血器疾患25例 [MDS (N=10)、AMLもしくは骨髄肉腫 (N=9)、JMML (N=3例) その他 (N=3例)] を対象に生殖細胞系列のGATA2とSAMD9/9Lの病的バリエーションの頻度を解析した。SAMD9/9Lについては機能解析を追加し、その臨床的特徴を明らかにした。

#### 4. 研究成果

##### (1) 悪性ラブドイド腫瘍の背景にある SMARCB1 遺伝子の生殖細胞系列異常

腫瘍の解析により、全例で SMARCB1 遺伝子の両アレルに異常が確認できた。全てが SMARCB1 蛋白の合成が中断されるナンセンス変異や欠失であった。

これらの異常の由来を確認したところ、低頻度の体細胞モザイク 3 例を含む 8 例 (50%) で、SMARCB1 遺伝子変異もしくは欠失が生殖細胞系列にも検出された。体細胞モザイクの 3 例のうち、2 例は SMARCB1 遺伝子の欠失であり、末梢血液中に SMARCB1 遺伝子の欠失がある細胞割合はそれぞれ 40%、24% であった。また、1 例は SMARCB1 遺伝子の点変異であり、末梢血液中の SMARCB1 遺伝子変異をもつ細胞割合は 3.4% であった (図 2)。

生殖細胞系列に異常をみと

めた患者の年齢中央値は 5 か月 (範囲, 最小値 0 か月 ~ 最大値 75 か月) であり、生殖細胞系列に異常を認めなかった患者の年齢中央値 23.5 か月 (範囲, 最小値 13 か月 ~ 最大値 154 か月) と比較して有意差を認めなかった。

これらのことから、従来の報告では見逃されていたような低頻度モザイクでの発症があり、これまでの報告に比べ、遺伝的背景の関与する頻度が高いことが示された。また、年長児の発症でも、生殖細胞系列の遺伝的背景が関与していることが示唆された。

##### (2) モノソミー 7 を伴う造血器疾患の背景にある GATA2、SAMD9/9L 変異

GATA2 の解析からは、対象の 25 例中 7 例で異なる 7 つの病的バリエーションを同定した。これらのうち 4 つは新規フレームシフト変異 (p.Ala107fs, p.Thr242fs, p.Arg344fs, p.Asn383fs) であり、また残りの 3 つ (p.Gly201Ter, p.Arg337Ter, p.Arg361Leu) は NCBI ClinVar に登録された病的バリエーションであった。

SAMD9/9L の解析では、SAMD9 p.Lys643Glu ならびに SAMD9L p.Trp1507Arg、p.Ser1509Arg の 3 つの病的バリエーションを同定した。これらはいずれも機能的に growth disadvantage をもたらしることが確認され、7 番染色体の欠失に寄与することが示された。

これらの成果は、小児造血器疾患の病態における遺伝的背景の重要性をさらに強く認識させるものである。

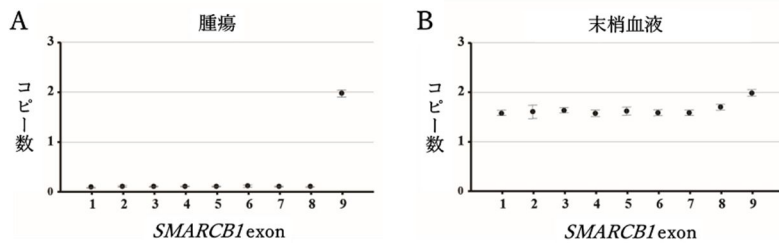


図 2. 悪性ラブドイド腫瘍にみられた SMARCB1 異常

A) 腫瘍細胞では、ホモ欠失により細胞の大部分で SMARCB1 遺伝子の欠失がみられる。B) 同じ患者の末梢血液中では、コピー数 1.6 と、40% の細胞が欠失を有することが推定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Shirai R et al.   | 4. 巻<br>NA         |
| 2. 論文標題<br>High prevalence of SMARCB1 constitutional abnormalities including mosaicism in malignant rhabdoid tumors | 5. 発行年<br>2020年    |
| 3. 雑誌名<br>European Journal of Human Genetics  | 6. 最初と最後の頁<br>Epub |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41431-020-0614-z  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-          |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yoshida M et al.   | 4. 巻<br>191             |
| 2. 論文標題<br>Prevalence of germline GATA2 and SAMD9/9L variants in paediatric haematological disorders with monosomy 7 | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>British Journal of Haematology   | 6. 最初と最後の頁<br>835 ~ 843 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1111/bjh.17006   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>吉田仁典ら  |
| 2. 発表標題<br>NUDT15 variants confer high incidence of secondary malignancies of ALL in children |
| 3. 学会等名<br>第61回日本小児血液・がん学会学術集会  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                   | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)          | 備考 |
|-------|---|--------------------------------|----|
| 研究分担者 | 樋渡 光輝<br>(Hiwatari Mitsuteru)<br>(40597126) | 東京大学・医学部附属病院・講師<br><br>(12601) |    |

6. 研究組織（つづき）

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)       | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|-------|---------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 鳴海 覚志<br><br>(Narumi Satoshi)   |                       |    |
| 研究協力者 | 吉田 仁典<br><br>(Yoshida Masanori) |                       |    |
| 研究協力者 | 白井 了太<br><br>(Shirai Ryota)     |                       |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|         |         |