

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：82412

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16909

研究課題名（和文）5歳未満発症中枢神経胚細胞腫の分子遺伝学解析

研究課題名（英文）Molecular genetic analyses of central nervous system germ cell tumors in children aged &#8045;5 years old

研究代表者

福岡 講平（Fukuoka, Kohei）

埼玉県立小児医療センター（臨床研究部）・血液腫瘍科・医長

研究者番号：60746717

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：合計16例のうち、4例は卵黄嚢腫瘍、12例で奇形腫であり、年長児症例で頻度の高いジャーミノーマは一例も認めなかった。分子遺伝学解析として変異解析を行ったところ、1例にSMARCA4変異を認めた。また、網羅的DNAメチル化解析を行ったところ、5歳未満発症の奇形腫、卵黄嚢腫瘍症例はそれぞれ年長児発症症例とともにクラスターされたが、上記のSMARCA4変異を有する奇形腫症例は、SMARCA4変異を有する Atypical teratoid/Rhabdoid tumorとともにクラスターされた。これらの結果から、乳児期発症頭蓋内胚細胞腫の一部は臨床的、分子遺伝学的に年長児とは異なる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭蓋内胚細胞腫は、海外では非常に稀な上、診断、治療方針の相違のため、海外では中枢神経胚細胞腫の診断時に腫瘍生検を行わない事が多いため、検体そのものが存在しない事が多く、低年齢発症の頭蓋内胚細胞腫に関する研究は、臨床、分子遺伝学的解析ともに、日本でも未だ行われておらず、本研究は、国内、国外初の研究となる。本研究により、乳幼児発症中枢神経胚細胞腫瘍の多様性が明らかになり、今後の更なる病態解明につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Of these 16 cases, four were pathological yolk sac tumors and 12 were noted to be teratomas, in contrast to high prevalence of germinoma in older children and adult. 2 cases out of 8 recurrent cases relapsed as different types of GCT, so-called “metachronous GCT”, more than 5 years after onset.

Molecular genetic analyses revealed SMARCA4, TP53, and PTEN mutations in one of the teratoma cases. DNA methylation analysis revealed that infantile teratoma and yolk sac tumor were clustered together in older children, except for the SMARCA4 mutant teratoma, which was classified as an atypical teratoid/rhabdoid tumor harboring SMARCA4 mutation. Copy number analysis presented 12p gain, which is regarded as a poor prognostic factor in older aged GCT, in four cases, consisting of three yolk sac tumors and one relapsed teratoma case. Overall, a subset of infantile CNS-GCT may be clinically and molecularly different from its tumor counterpart observed in older children and adults.

研究分野：小児科科学

キーワード：中枢神経胚細胞腫瘍 乳幼児期発症 分子遺伝学的解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中枢神経胚細胞腫は、小児期から若年成人に好発する悪性中枢神経腫瘍の一つである。欧米では稀であるが、日本を中心とした東アジアで頻度が高いとされ、我が国においては、14歳以下では2番目に発症頻度の高い中枢神経腫瘍である。多くの症例が思春期前後に発症する一方で、稀ながら5歳未満の小児に発症する場合、発症時に巨大な腫瘍であり摘出困難であることや、晩期合併症の懸念から放射線治療を使用しづらいことから予後不良であることが知られており、また、好発部位、治療反応性など臨床像が、高年齢小児や成人発症の腫瘍の場合と異なるため、分子遺伝学的にも異なる可能性が示唆されるが、希少性からその全貌は明らかになっていない。

2. 研究の目的

低年齢小児、特に5歳未満発症の中枢神経胚細胞腫症例の臨床的、分子遺伝学的特徴を明らかにする事

3. 研究の方法

(1) 5歳未満発症の中枢神経胚細胞腫症例の臨床情報を後方視的に抽出する。具体的には、発症年齢、性別、発症症状、発症部位、播種の有無、行われた治療、治療反応性、予後などについて、検索し、データをまとめる。また、CT、MRI画像を精査し、画像上の特徴を精査する。具体的には、発症部位、CT画像における石灰化の有無、MRIにおける造影所見の有無、拡散強調画像での高信号像の有無、脊髄播種の有無については、特に集中して情報を得る。

(2) 病理所見についての解析を行う。病理像の特徴、核分裂像の有無、MIB-1 indexの多寡、その他免疫染色の所見をとりまとめ、精査する。

(3) OncoPrint Tumor Mutation Load Assay[®]にて腫瘍検体の変異解析を行い、臨床情報との統合、高年齢発症症例のデータとの比較を行う。その希少性から検体量が極めて限られており、FFPEのみしか検体が無い症例が多い事、かつ症例が古く死亡している症例もあり、全エクソン解析などを行うための正常コントロールを有していないケースも多い事から、今回は、FFPE検体でも対応可能で、データ解析に正常検体が不要な、Thermo Fisher Scientific社の OncoPrint Tumor Mutation Load Assay[®]を用いて、変異解析を行う。これらの腫瘍検体からDNAを抽出し遺伝子変異解析を行う。

(4) Infinium MethylationEpic BeadChip[®]を用いて、網羅的DNAメチル化解析を行い、同時にメチル化データの元データであるシグナル値を用いて、コピーナンバー解析を行う。

得られたメチル化データを、reference dataと共に解析を行い、メチル化プロファイルの相違点を見出し、また、臨床データ、変異解析結果、コピーナンバー解析結果と統合し、本コホートにおける臨床的、分子遺伝学特徴を見出す。

DNAメチル化プロファイルは、細胞起源を反映するとされ、病理学的に同一であっても異なる細胞起源であり、ひいては分子遺伝学的にも異なるとみなされたり、逆に病理学的に異なる腫瘍が、メチル化プロファイルが同一であった場合、細胞起源が同じ腫瘍であるという事が分ったり、昨今、特に小児脳腫瘍における分子診断の最も重要なモジュールの一つとなっている。そのため、メチル化データを、Gene Expression Omnibus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)に公開されているその他の脳腫瘍、中枢神経胚細胞腫および中枢神経外発症胚細胞腫のreference dataや、申請者が有する中枢神経胚細胞腫のメチル化データと共に unsupervised hierarchical clusteringやT-distributed Stochastic Neighbor Embedding plotting (TSNE plotting) などを行う事で、5歳未満発症胚細胞腫が、その他の胚細胞腫と同様の細胞起源かどうかの評価が可能になる。また、臨床的には高年齢発症の中枢神経胚細胞腫症例とはやや異なる様子があるため、臨床データ、変異解析、コピーナンバー解析結果と統合し、高年齢発症の中枢神経胚細胞腫や中枢神経外胚細胞腫と比べて、本コホートが独立した腫瘍群であるか否かを評価する。

4. 研究成果

収集し得た合計16例のうち、4例は卵黄嚢腫瘍、12例で奇形腫であり、年長児症例では最も頻度の高いジャーミノーマは一例も認めなかった。腫瘍サイズが5cm以上の巨大な腫瘍は合計6例認めしたがうち4例は年長児では極めて稀な大脳半球腫瘍であった。

再発は8例に認められたが、そのうち2例は初発から5年以上経過してから別のタイプの胚細胞腫瘍が発生する、いわゆるmetachronous germ cell tumorとしての再発であった。

分子遺伝学解析として、変異解析を行ったところ、1例にSMARCA4変異、TP53変異、PTEN変異を認めた。また、網羅的DNAメチル化解析を行ったところ、5歳未満発症の奇形腫、卵黄嚢腫瘍症例はそれぞれ年長児発症症例とともにクラスターされたが、上記のSMARCA4変異を有する奇形腫症例は、SMARCA4変異を有するAtypical teratoid/Rhabdoid tumorとともにクラスター

された。また、奇形腫症例のみで hierarcichal clustering を行うと、病理組織学的未熟性の有無によりメチル化プロファイルが異なることが示唆された。コピーナンバー解析では、年長児の中枢神経胚細胞腫瘍で高頻度に認められる 12p gain については、4 例に認められ、それらは 3 例が卵黄嚢腫瘍、1 例が再発を来した奇形腫であった。これらの結果から、乳児期発症頭蓋内胚細胞腫の一部は臨床的、分子遺伝学的に年長児とは異なる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------