

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15328

研究課題名（和文）脱分化型脂肪肉腫に対するエピゲノム解析

研究課題名（英文）Epigenomic analysis of dedifferentiated liposarcoma

研究代表者

浅野 尚文（Asano, Naofumi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：10445299

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：脱分化型脂肪肉腫は成人に好発する高悪性度腫瘍である。今回我々は、高分化型/脱分化型脂肪肉腫に対するゲノム網羅的なDNAメチル化解析を行い、悪性度の高い脱分化型脂肪肉腫では脂肪分化に関する遺伝子のDNAメチル化が悪性化に関与している可能性を見出した。本研究結果から、今後、脱分化型脂肪肉腫に対する新規治療戦略として脱メチル化剤治療が有用な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

本研究結果は、今後更なる前臨床研究が必須ではあるが、手術以外に有効な治療法が確立されていない、脱分化型脂肪肉腫の新規治療戦略となり得ることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Dedifferentiated liposarcoma is a high-grade soft tissue sarcoma that predominantly affects in adults. In this study, we performed a comprehensive genomic DNA methylation analysis of well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas. We found that DNA methylation of genes related to adipogenic differentiation may be involved in malignant transformation in highly malignant dedifferentiated liposarcomas. Our results suggest that demethylating agent therapy may be useful as a novel therapeutic strategy for dedifferentiated liposarcoma in the future.

研究分野：肉腫、骨軟部腫瘍

キーワード：肉腫 脂肪肉腫 脱分化型脂肪肉腫 DNAメチル化 脱メチル化剤

## 1. 研究開始当初の背景

脂肪肉腫 (LPS) は、年間 300 例程度発生する希少がんの一種で、高分化型 (WDLPS) / 脱分化型脂肪肉腫 (DDLPS) は最も頻度の高い亜型である。両腫瘍は共に染色体 12q13-15 領域の増幅に伴う MDM2/CDK4 遺伝子増幅が原因遺伝子とされているが、臨床的には異なる生物学的特徴を示す。高分化型脂肪肉腫は、中間悪性腫瘍に分類される。局所浸潤性は高いものの、遠隔転移は稀で、比較的予後良好である。一方、脱分化型脂肪肉腫は、高悪性度の腫瘍に分類され、再発率が非常に高く、遠隔転移も 15-20% 程度で認める極めて予後不良の疾患である。高分化型脂肪肉腫の約 10% は経年的に脱分化型脂肪肉腫に移行すること (脱分化現象) が知られ、いわゆる多段階発がんを来す腫瘍であると認識されているが、残りの約 90% は新規腫瘍として発症するとされ、脱分化現象のメカニズムについては未だ明らかになっていない。標準治療は外科的切除で、再発・進行例に対する有効な治療法は確立していない。

近年の次世代シーケンサーによる解析技術の進歩により、様々ながんにおいて、網羅的なゲノム解析が行われ、同定されたゲノム異常に基づく個別化医療の開発が進んでいるが、ゲノム解析では全てのがんに対してその治療標的を同定し得ないことが徐々に明らかとなって来ている。そのようながんに対しては、DNA メチル化などのエピゲノム異常の解析が重要であると考えられている。我々は後述する先行研究において、高分化/脱分化型脂肪肉腫のゲノム解析を行い、ゲノム異常については両腫瘍の間に大きな差が無かったことを明らかとしている。このことから、この脱分化現象はエピジェネティック異常の蓄積により規定されている可能性が高いと思われる。さらに、DNA のメチル化は脱メチル化剤にて解除が可能であることから、脱分化現象がエピジェネティック変化に起因する場合、脱メチル化剤は脱分化型脂肪肉腫に対する新規治療方法になり得ると考える。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、高分化型/脱分化型脂肪肉腫におけるエピゲノム異常を網羅的に解析し、同腫瘍の悪性度や脱分化現象に関わるエピゲノム異常を明らかにすること、及び脱メチル化剤の脱分化型脂肪肉腫に対する治療効果を検証することである。高分化/脱分化型脂肪肉腫は希少がんであることから、現在までに高分化/脱分化型脂肪肉腫に対するエピゲノム解析の報告はほとんどなく、極めて重要な研究となることが期待される。また、メチル化アレイを含めた modality の進歩により、現在では、より網羅的で、高感度な DNA メチル化の定量的解析が可能となっており、本研究で用いる最新の DNA メチル化ビーズアレイを用いたメチル化解析は新たな知見を得る可能性が極めて高い。

## 3. 研究の方法

手術治療を行った脂肪肉腫患者から得られた凍結腫瘍組織 (脱分化型脂肪肉腫、高分化型脂肪肉腫、正常脂肪組織) を対象として DNA メチル化ビーズアレイ (Infinium® MethylationEPIC BeadChip) による網羅的 DNA メチル化解析を行う。得られた網羅的 DNA メチル化のデータを用いて、脱分化型脂肪肉腫と高分化型脂肪肉腫の DNA メチル化プロファイルを比較し、脱分化型脂肪肉腫に特徴的で腫瘍の悪性度に関わる遺伝子もしくはパスウェイの同定を試みる。さらに、同定された遺伝子のメチル化異常と腫瘍の悪性度や脱分化現象との関連性について、細胞株 (高分化型脂肪肉腫由来、脱分化型脂肪肉腫由来) を用いて検証する。

## 4. 研究成果

脱分化型脂肪肉腫のメチル化異常の全体像を把握するため、まず、手術により得られた患者由来の凍結保存組織 (脱分化型脂肪肉腫 10 検体、高分化型脂肪肉腫 6 検体、正常脂肪組織 6 検体) を用いて、Infinium HumanMethylationEPIC BeadChip による網羅的な DNA メチル化解析を行った。脱分化型脂肪肉腫 (高悪性度)、高分化型脂肪肉腫 (良悪性中間)、正常脂肪組織の 3 群はそれぞれグループを成し、正常脂肪組織および高分化型脂肪肉腫は近接して分布し比較的類似性が高いのに対し、脱分化型脂肪肉腫は広範に分布し腫瘍間不均質性が高い事が分かった (図 1)。

また、脱分化型脂肪肉腫の腫瘍組織においてエンハンサーおよびプロモーター領域でメチル化されている遺伝子は脂肪分化に重要な遺伝子である PPAR $\gamma$  などの結合領域を多く含んでいることが分かった (6.2%: 全ゲノム中 1.1%) (図 2)。

次に、脱分化型脂肪肉腫の細胞株 (LP6) を用いて Agilent SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 による遺伝子の網羅的な発現解析を行い、高メチル化状態にある脂肪分化や合成に関連する遺伝子 (PPAR $\gamma$  2, FABP4 など) の発現は、脱分化型脂肪肉腫の腫瘍組織において低く、それらが実際に脱メチル化剤の投与により発現回復が可能であることを見出した (図 3)。

これらの事から、脱分化型脂肪肉腫の発生には DNA メチル化による脂肪分化関連遺伝子の発現抑制と、脂肪分化に重要な領域のエピゲノム異常が関与している事が示された。脱メチル化剤と PPAR $\gamma$  アゴニストの併用療法は、脱分化型脂肪肉腫の新規治療戦略となる可能性が示唆された (図 4)。

図 1. 高分化/脱分化型脂肪肉腫の DNA メチル化状態の特徴

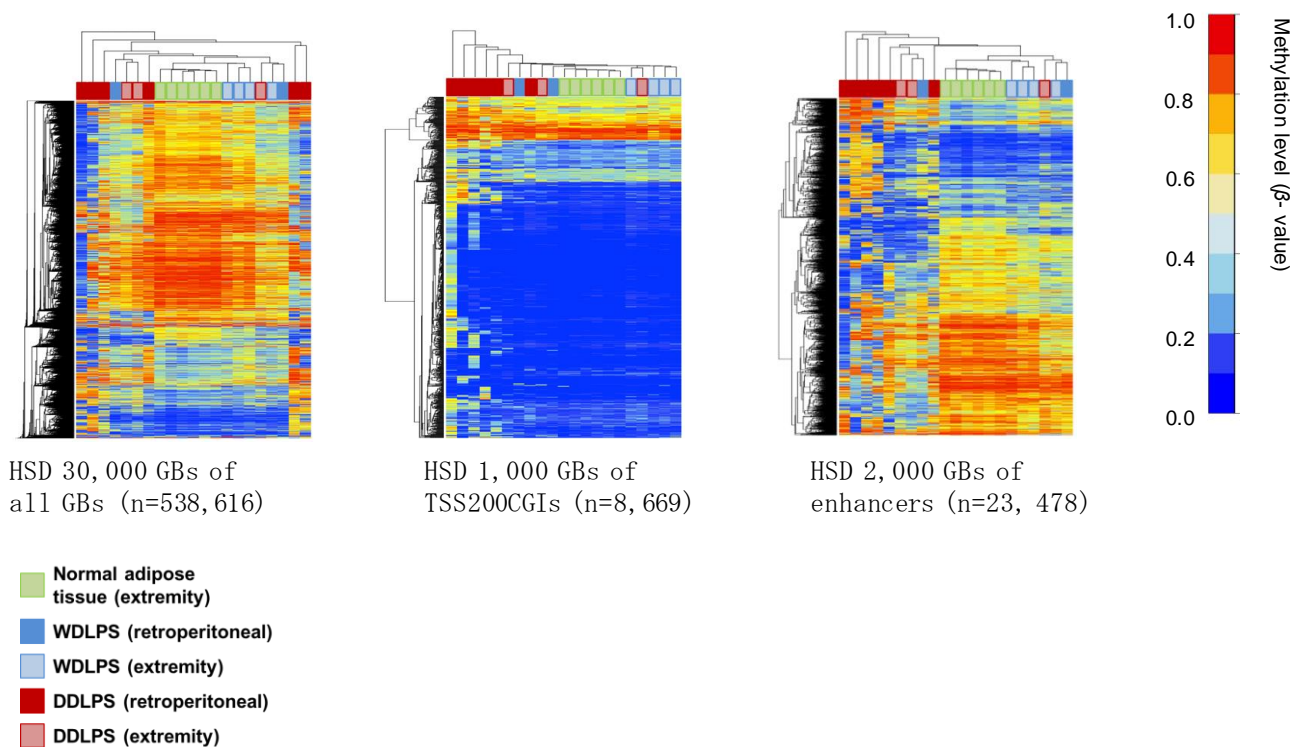


図 2. 脱分化型脂肪肉腫における脂肪分化に関する遺伝子のメチル化

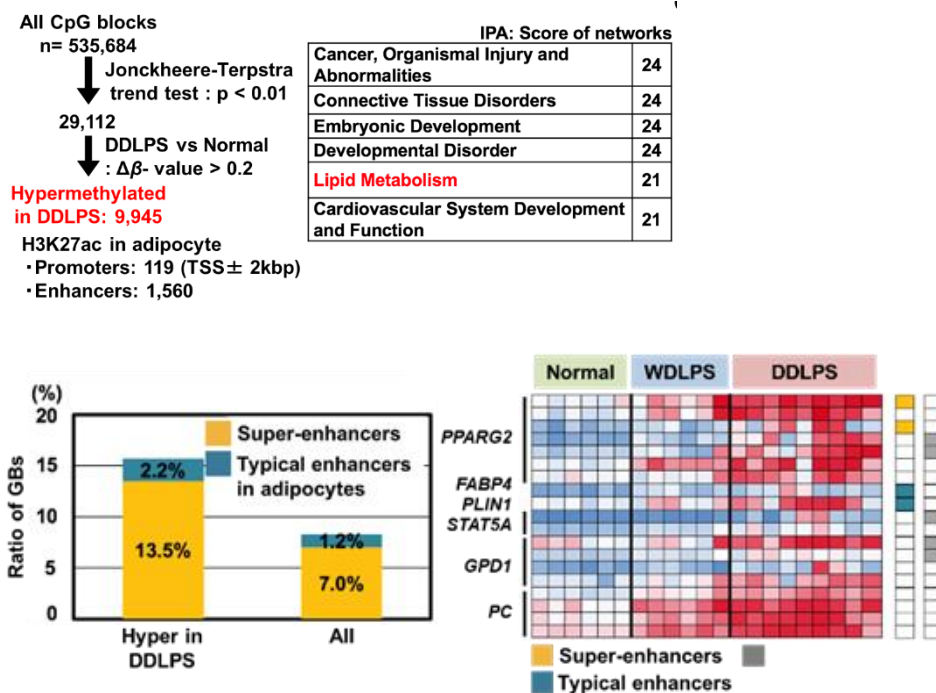


図 3. 脱メチル化剤による脂肪分化関連遺伝子の遺伝子発現回復

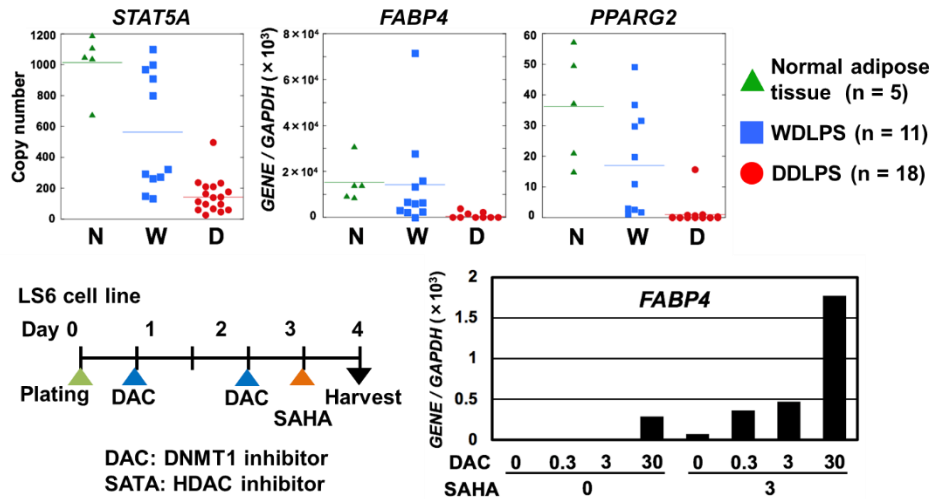
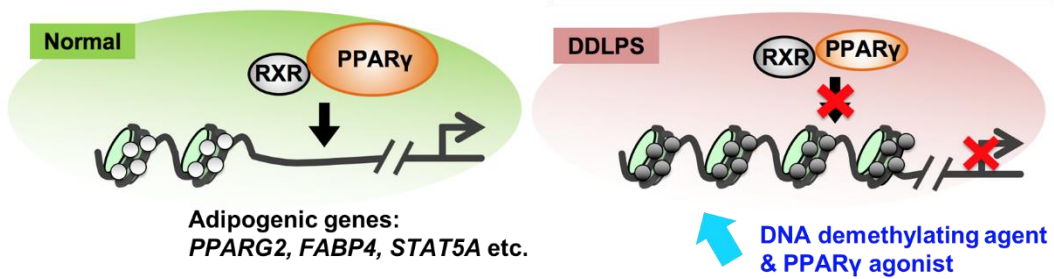


図 4. 脱分化型脂肪肉腫に対する新規治療戦略；脱メチル化剤と PPAR $\gamma$  アゴニストの併用療法



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hironori Takamatsu, Naoko Hattori, Naofumi Asano, Naoko Iida, Akihiko Yoshida, Eisuke Kobayashi, Robert Nakayama, Morio Matsumoto, Masaya Nakamura, Akira Kawai, Toshikazu Ushijima
2. 発表標題 Epigenomic disruption of adipogenic regulators in dedifferentiated liposarcoma Short title: Epigenomic changes in liposarcoma
3. 学会等名 AACR (American Association for Cancer Research) Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔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
---------	---------