

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16573

研究課題名（和文）第22番染色体長腕欠失ありNF2遺伝子変異なし髄膜腫のエクソーム解析

研究課題名（英文）Investigation for novel oncogenic mutations in meningioma with 22q loss and without NF2 mutation

研究代表者

黒井 康博（Kuroi, Yasuhiro）

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：80774231

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）：髄膜腫121症例にコピー数解析を行い、22番染色体の欠失を認めた72症例に対して、NF2変異の検索を行った。うち7例では22番染色体の欠失があり、NF2遺伝子の変異を認めず、現在、さらなる解析を継続している。コピー数解析を行った過程で、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫に着目して解析したところ、両者が特徴的なコピー数変化を共有していることを見出した。今後さらなる検討の余地はあるが、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫は遺伝学的には同一であ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

近年、次世代シーケンサーの普及に伴い髄膜腫の遺伝解析が大きく進歩している。現在、髄膜腫は病理学的所見のみに基づいて診断・分類されているが、予後にかかわる遺伝子変異も知られてきている。そのため、髄膜腫の遺伝子変異による診断・分類がなされれば、正確な予後予測や、全摘出が困難な髄膜腫に対する投薬治療を加速させる可能性が期待される。本研究は、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫が同一の染色体コピー数変化を示していることが明らかにし、髄膜腫の遺伝子診断の構築への布石となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Among 121 cases examined, 72 found to have chromosome 22 monosomy. Among them, 7 cases had no somatic mutations in NF2 gene, and they are currently on further examination. During copy number analysis, angiomatous and microcystic meningioma were found to share distinct copy number aberrations, indicating same tumor forming process underlies between them.

研究分野：髄膜腫の遺伝子解析

キーワード：髄膜腫 遺伝子解析 血管腫性髄膜腫 微小嚢胞性髄膜腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサーの普及により髄膜腫の遺伝解析が大きく進歩している。2013 年の Clark らによる報告により、NF2 meningioma と、non-NF2 meningioma(これらは更に TRAF7/AKT1 type, TRAF7/KLF4 type, SMO type に細分される)と髄膜腫の系統的な遺伝的分類が打ち出された。

### 2. 研究の目的

同報告をよくみると、non-NF2 meningioma の中に、TRAF7/AKT1, TRAF7/KLF, SMO のいずれの変異も持たない髄膜腫が一定数(全体の 14%程度)存在することがわかる。これらの特定の遺伝子変異が同定されない髄膜腫は全て chr22 loss を伴っている。Clark らの検討で不十分だった網羅的な遺伝子解析を chr22 loss を持ち、かつ NF2 変異を持たない髄膜腫に限定して行い、未知の髄膜腫の遺伝的な亜分類の発見を目指すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

- (1)腫瘍と生殖細胞系列のペア検体に対して SNP アレイ解析を行い、chr22 長腕欠失のあるサンプルを同定した。
- (2)chr22 loss を認めるサンプルに対して NF2 遺伝子変異の有無を同定した。この作業には、ion-PGM シーケンサーによるターゲットリシーケンスにて行い、NF2 遺伝子内に見られる明らかな機能的病的変異をもつ検体を抽出した。
- (3)chr22 loss を認めるが NF2 変異を認めないサンプルを同定した。これらを対象に、次世代シーケンサーを用いた網羅的ゲノム解析を行うこととした。

### 4. 研究成果

髄膜腫 121 症例にコピー数解析を行い、22 番染色体の欠失を認められた 72 症例に対して、NF2 変異の検索を行った。うち 7 例では 22 番染色体の欠失があり、NF2 遺伝子の変異を認めず、現在、さらなる解析を継続している。

コピー数解析を行った過程で、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫に着目して解析したところ、両者が特徴的なコピー数変化を共有していることを見出したため、これを精査した。図 1 には、自検例の血管腫性髄膜腫 (AG; angiomatous meningioma)3 症例、および微小嚢胞性髄膜腫 (MC; microcystic meningioma)3 症例の染色体コピー数プロファイル、公共データベースより取得した WHO グレード I の 46 例の髄膜腫と比較したものを示す。現在までに、血管腫性髄膜腫は本研究で確認されたような 5 番染色体の増幅などを特徴とするコピー数異常を呈することが知られていたが、微小嚢胞性髄膜腫においては、そのような報告はない。(1)

これら各々 3 症例に対して、全エクソーム解析ならびに RNA 発現解析を追加し、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫に遺伝学的な相違点があるかどうかを検証したところ、

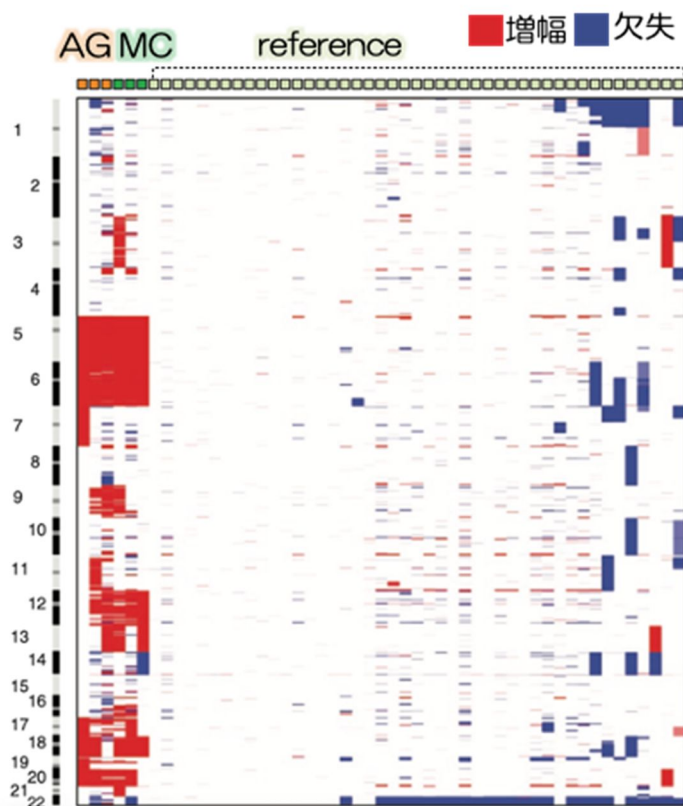


図 1 AG (angiomatous meningioma; 血管腫性髄膜腫)3 例、MC (microcystic meningioma; 微小嚢胞性髄膜腫)3 例、および reference(公共データベースより取得した WHO グレード I の髄膜腫 46 例)の染色体コピー数プロファイル。血管腫性髄膜腫および微小嚢胞性髄膜腫は 5 番染色体 6 番染色体の増幅に代表される染色体コピー数異常を共有していた。

両者間に明らかな腫瘍体細胞変異あるいはRNA発現において差を認めなかった。

血管腫性髄膜腫では、染色体コピー数異常を示すことが知られているのに対し、微小嚢胞性髄膜腫には報告がないことを踏まえ、上記実験で得られた所見を確認するために、微小嚢胞性髄膜腫の腫瘍サンプルを追加で収集しコピー数解析を行った。この際、図1に示す実験では腫瘍凍結標本と生殖体系列のペア検体を用いたのに対し、今回の追加実験では病理パラフィン標本よりDNAを抽出し、生殖体系列のペア検体なしに解析を行った。また、対照として同じSNPアレイを用いたWHOグレードIの髄膜腫(自検例)を使用した。この結果を図2に示す。生殖体系列の情報がないために図1に示す実験と比較して精度は低いものの、微小嚢胞性髄膜腫は、5番染色体をはじめとする、その他のWHOグレードIの髄膜腫には見られない特徴的な染色体コピー数異常を呈することが、再現性をもって示された。

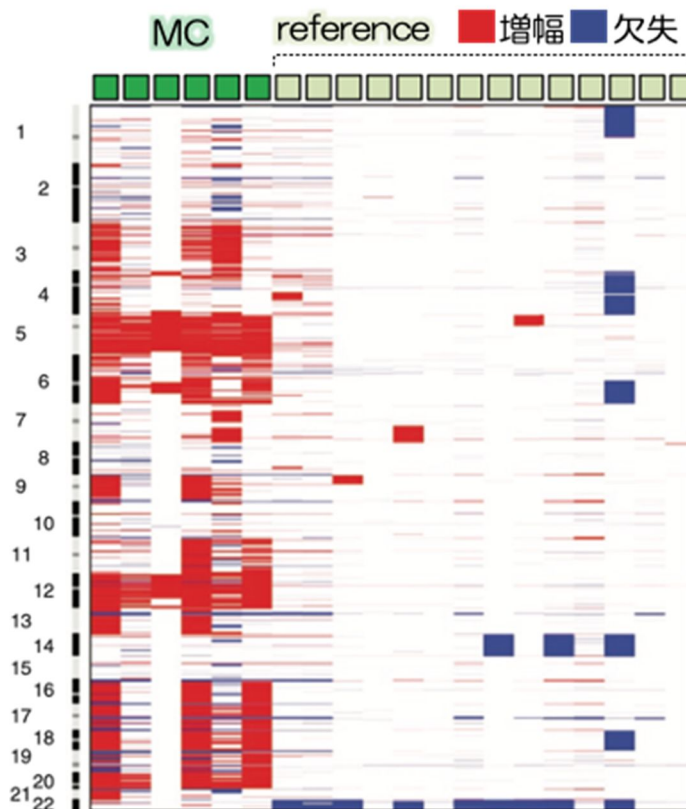


図2 MC 6例と、WHOグレードIの自検例の髄膜腫14例の病理パラフィン標本よりDNAを抽出しコピー数解析を行ったもの。MCは5番染色体をはじめとする、その他のWHOグレードIの髄膜腫にはみられない特徴的な染色体コピー数異常を示した。

以上より、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫は遺伝学的に非常に類似していることが示唆された。この発見は、血管腫性髄膜腫と微小嚢胞性髄膜腫の遺伝学的な診断根拠となるものであり、髄膜腫の遺伝的な亜分類を構築するのに有用な成果であるとして、報告した<sup>(2)</sup>

#### <引用文献>

1. Abedalthagafi M, Parker HM, Wenya LB et al, Angiomatous meningiomas have a distinct genetic profile with multiple chromosomal polysomies including polysomy of chromosome 5. *Oncotarget* 5:10596-10606, 2014
2. Kuroi Y, Akagawa H, Kasuya H, et al, Identification of shared genomic aberrations between angiomatous and microcystic meningiomas. *Neuro-Oncology Advances* 1:vdz028, May-December, 2019 <https://doi.org/10.1093/nojnl/vdz028>

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 Kuroi Y, Akagawa H, Onda H, Shibuya M, Kasuya H
2. 発表標題 A primary challenge to establish integrated molecular diagnosis for meningioma
3. 学会等名 The 6th Tokyo Shanghai Friendship Neurosurgical Forum (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
--	---------------------------	-----------------------	----