

小児悪性脳腫瘍において新規の遺伝子異常を発見 発症メカニズムを解明

鈴木 啓道

国立がん研究センター研究所 脳腫瘍連携研究分野



研究の要点

- 小児悪性脳腫瘍である髄芽腫のうち約60%の症例では、発生機序が不明でした。
- 国際共同研究により最大規模の髄芽腫に対するシーケンス解析を行い、CBFA複合体を構成する遺伝子に異常が生じていることを発見しました。
- ヒト胎児の脳細胞との比較で、CBFA複合体は、菱脳唇と呼ばれる部位で発現していました。この細胞は髄芽腫と非常によく似た特徴を持っていたため、髄芽腫の起源細胞と考えられました。
- 菱脳唇に存在する細胞は胎児期に段階的に分化し正常な神経細胞になりますが、CBFA複合体の遺伝子の異常により分化が正常に行われず異常な細胞として残存してしまい、髄芽腫が発生することを明らかにしました。
- 本報告により、これまで解明されていなかった髄芽腫の発症メカニズムが明らかにされました。髄芽腫がなぜ生じるか明らかになったため、今後新しい治療の開発が進んでいくと考えられます。



髄芽腫(Medulloblastoma)

髄芽腫

小児の悪性脳腫瘍で最も頻度が高い。

強い治療が必要
(手術+放射線+抗がん剤)

5年生存率は60~70%
しかし生存者の多くは治療による障害に苦しむ

- 高次機能障害
- 内分泌障害
- 二次がんの発症 など

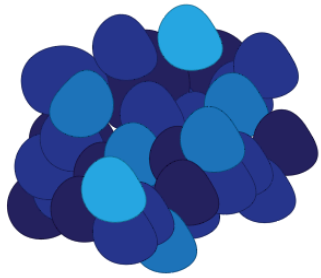
現在、有効な分子標的薬が無い

副作用の少ない効果的な治療開発が望まれている。



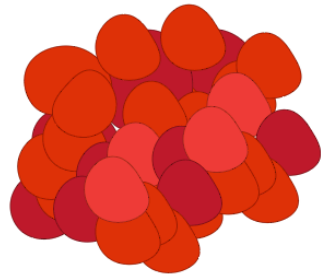
髄芽腫のサブグループ

WNT (10%)



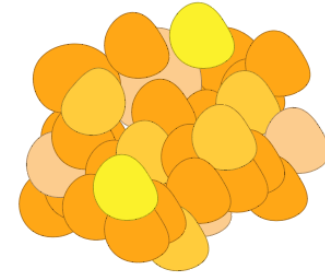
WNT伝達経路の異常

SHH (30%)



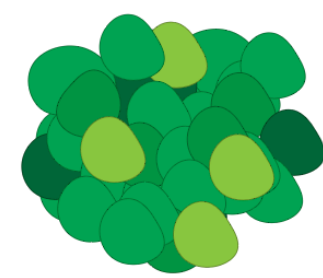
SHH伝達経路の異常

Group 3
(25%)



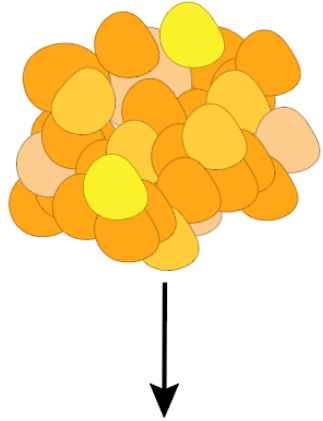
発症メカニズムが不明

Group 4
(35%)

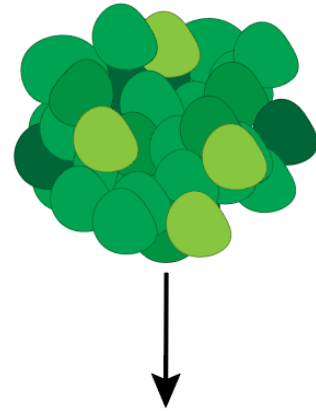


研究の目的

Group 3
(25%)



Group 4
(35%)



Group 3およびGroup 4の髄芽腫を背景にある遺伝子異常の関連する経路や、起源細胞を同定し、より詳細に解明するためには大きなコホートが必要となる

- ・ 明らかな遺伝子経路の異常は同定されていない
- ・ 起源細胞は単極刷毛細胞(Unipolar brush cell)の系統であろうという推測がなされているが、詳細なメカニズムは不明

1. シーケンスデータを用いた遺伝子異常解析



変異解析

■ 全ゲノム解析報告(2017)

- DNAを用いた腫瘍と正常組織のペアによる解析
- 個人差による遺伝子多型(病的ではない違い)を除去可能

252例の全ゲノムシーケンス解析

■ 本研究

- RNAシーケンスを用いた解析
- 正常組織のデータがなく遺伝子多型の除去が難しい
- RNA修飾による変化が入る

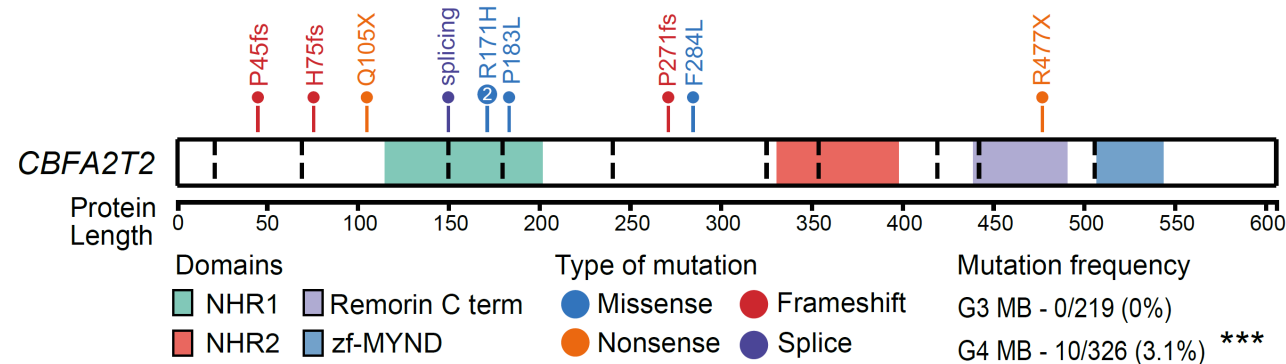
545例のRNAシーケンスデータ

- より大規模な解析が可能となる。
- 解析手法の改良で精度をあげる。

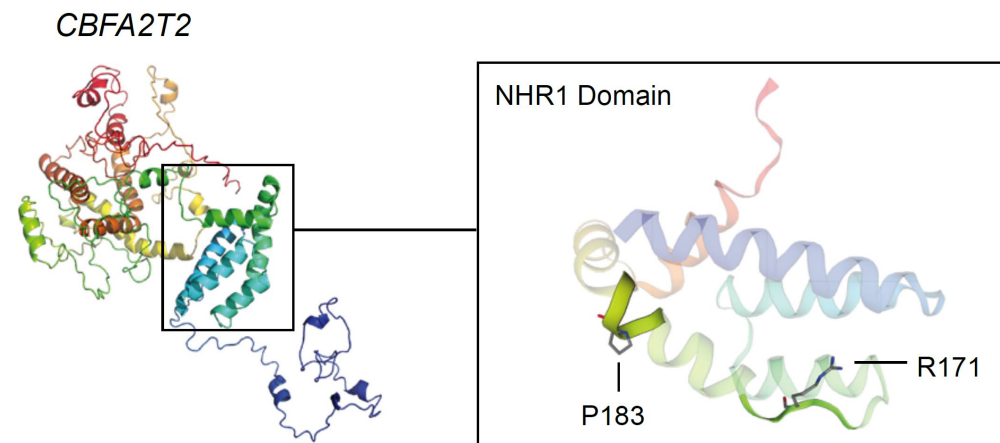
変異解析結果

Group 4 (326例) における有意な変異遺伝子

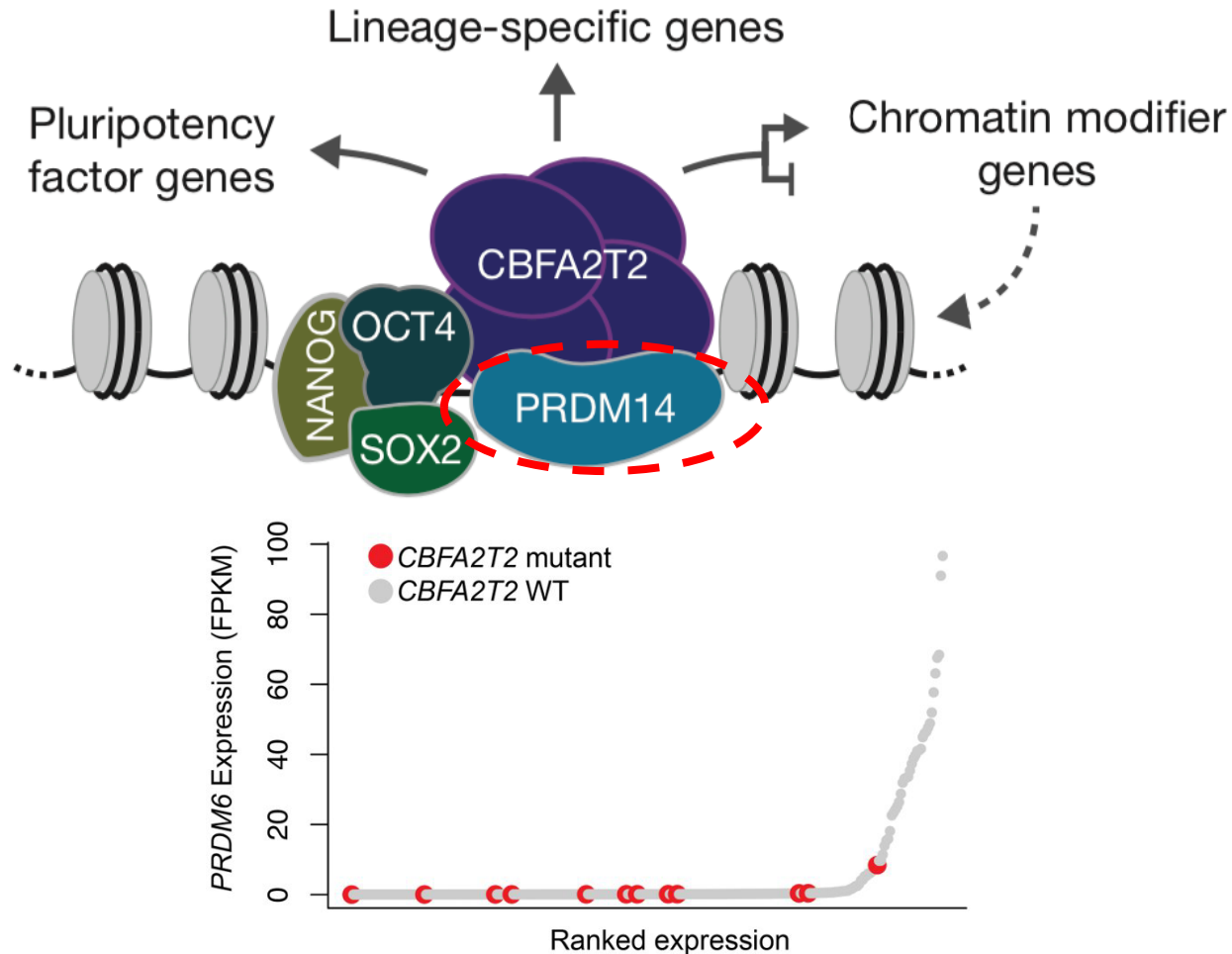
Gene	q-value	Cases
<i>KBTBD4</i>	< 10E-16	12
<i>KDM6A</i>	5.86E-11	23
<i>CBFA2T2</i>	5.22E-04	10
<i>ZMYM3</i>	5.55E-03	12
<i>ZIC1</i>	2.58E-02	8



変異パターンが機能を喪失するタイプの変異が多く病気に関与している可能性が高い。



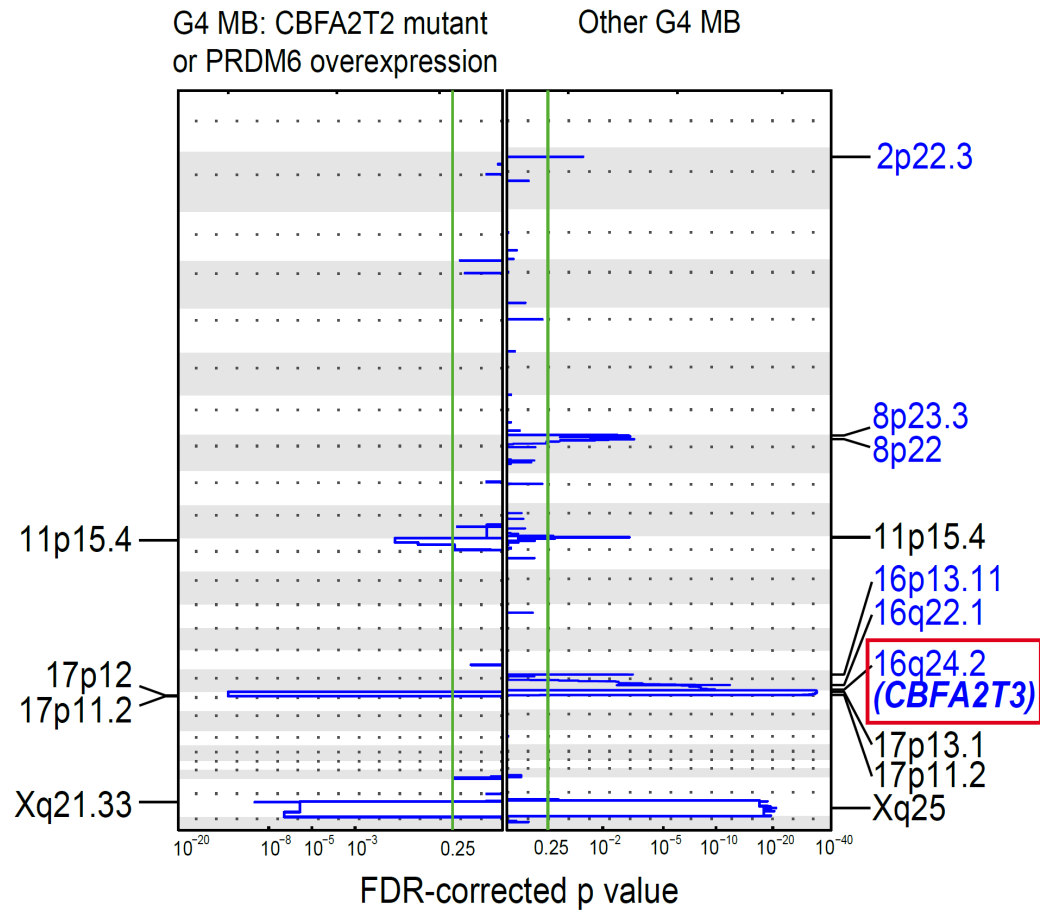
CBFA2T2の機能



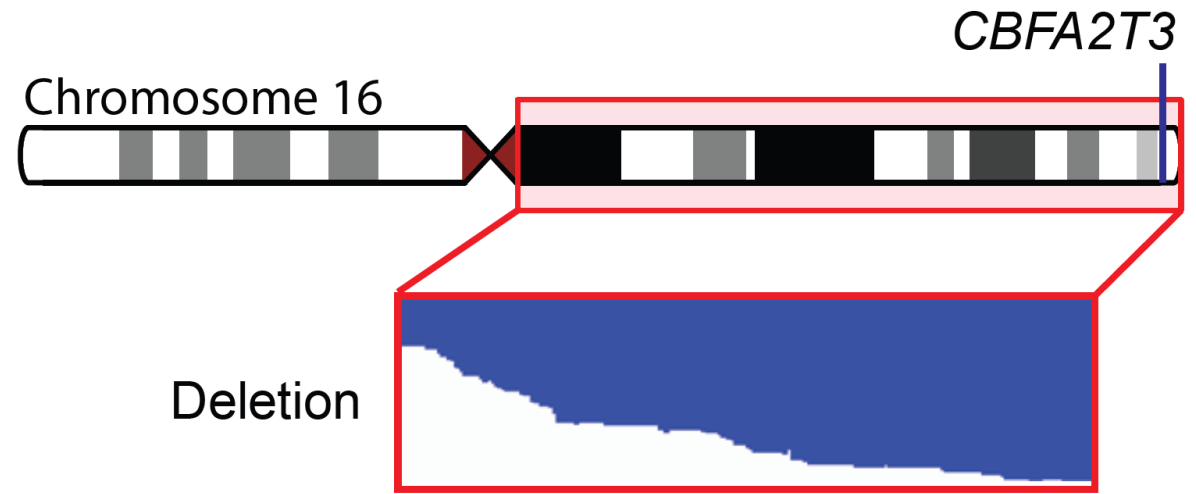
- CBFA2T2の機能はあまりよくわかっていない。
- PRDM14との相互作用の報告が散見。
- NHR1ドメインを介してPRDM遺伝子ファミリーと相互作用している。
- Group 4髄芽腫ではこれまでPRDM6の異常な高発現を示す群がいることがわかっている。
- CBFA2T2の変異はPRDM6がほとんど発現していない症例にしか認められなかった。

Tu et al., 2016, *Nature*
Nady et al., 2015, *eLife*.

SNPアレイによるコピー数異常解析



Group 4髄芽腫で
染色体16qの欠失が同定された。



CBFA2T2が正常でPRDM6の発現も正常な症例
→ **CBFA2T3を含んだ染色体欠失が好発**

Group 4 髓芽腫



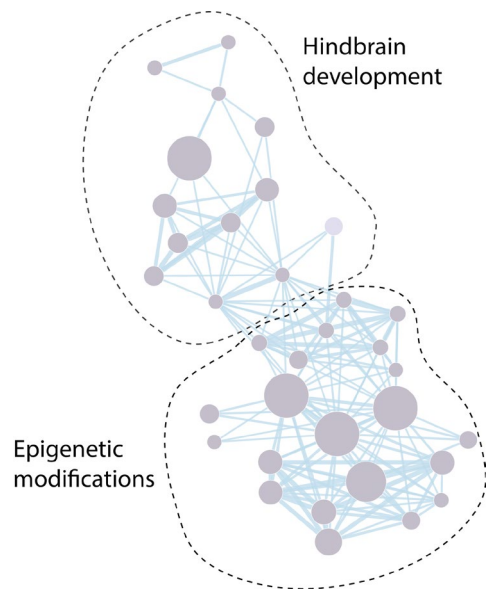
Complexを形成するだろうと推測される
*PRDM6, CBFA2T2, CBFA2T3*の異常がほとんどoverlapしない。

2. CBFAファミリー遺伝子の機能解析



CBFA2T2と他のタンパク質の相互作用

- ・ 髄芽腫細胞株を使用してTurboIDでタンパク質相互作用の網羅的解析を行った。



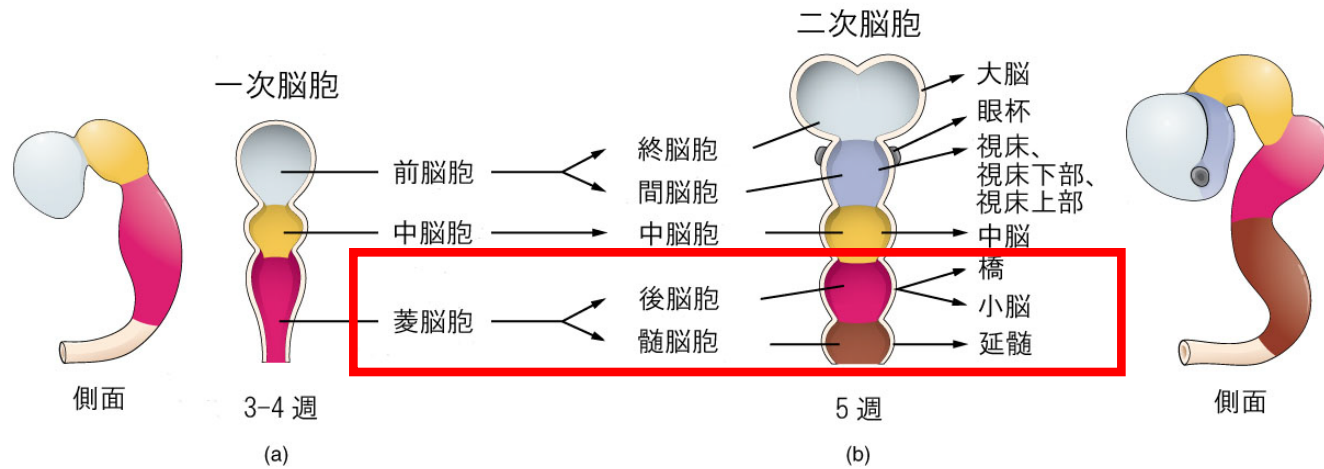
CBFA2T2 prey proteins	Average # peptides	q-value
Histone demethylase		
KDM6A	10.67	0.01
UTY	10.33	<0.01
KDM2B	8.67	0.03
Histone acetylation		
AUTS2	14.67	<0.01
EPC1	4.33	<0.01
CRTC2	3.67	0.01
YEATS4	3.33	0.03
Histone deacetylation		
MIDEAS	11.33	<0.01
SKI	9.00	<0.01
TRERF1	4.33	<0.01

*KDM6A*はGroup 4髄芽腫でドライバー変異が示唆されている比較的頻度の高い変異遺伝子
*CBFA2T2*は後脳の分化・発達に関与している可能性

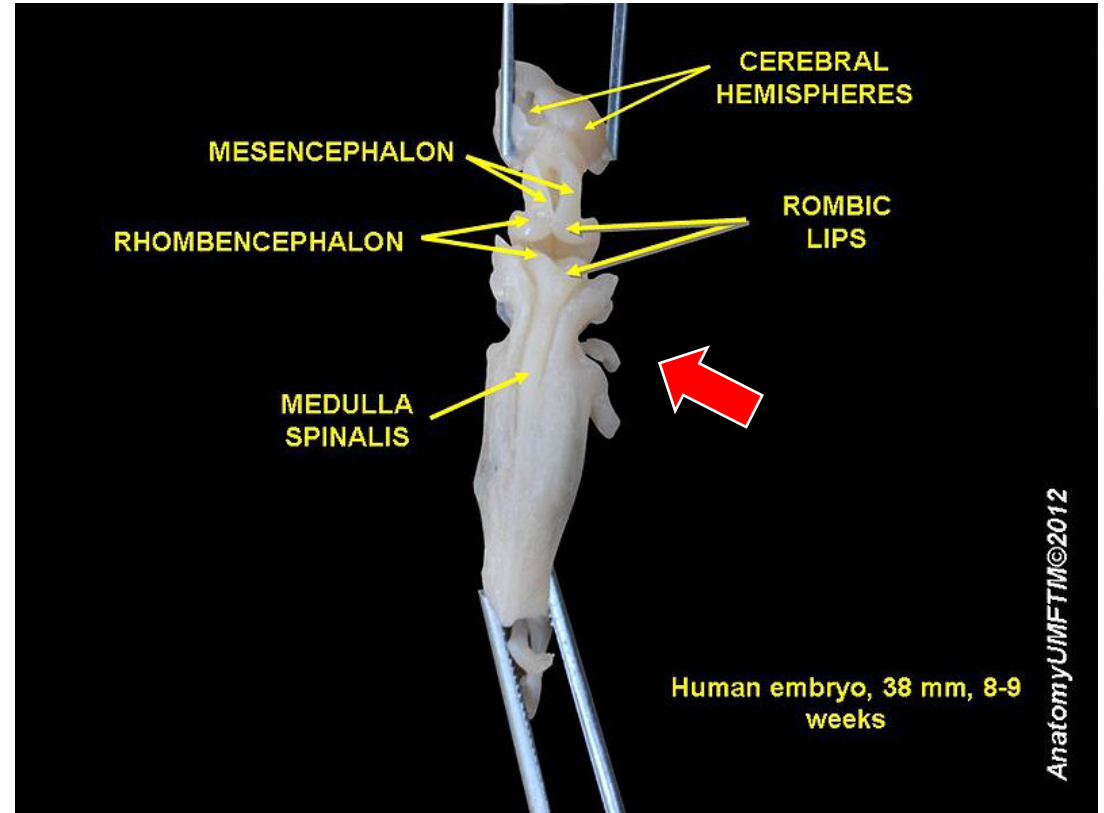
3. ヒト胎児の発達脳におけるCBFA複合体の発現解析



脳の発達

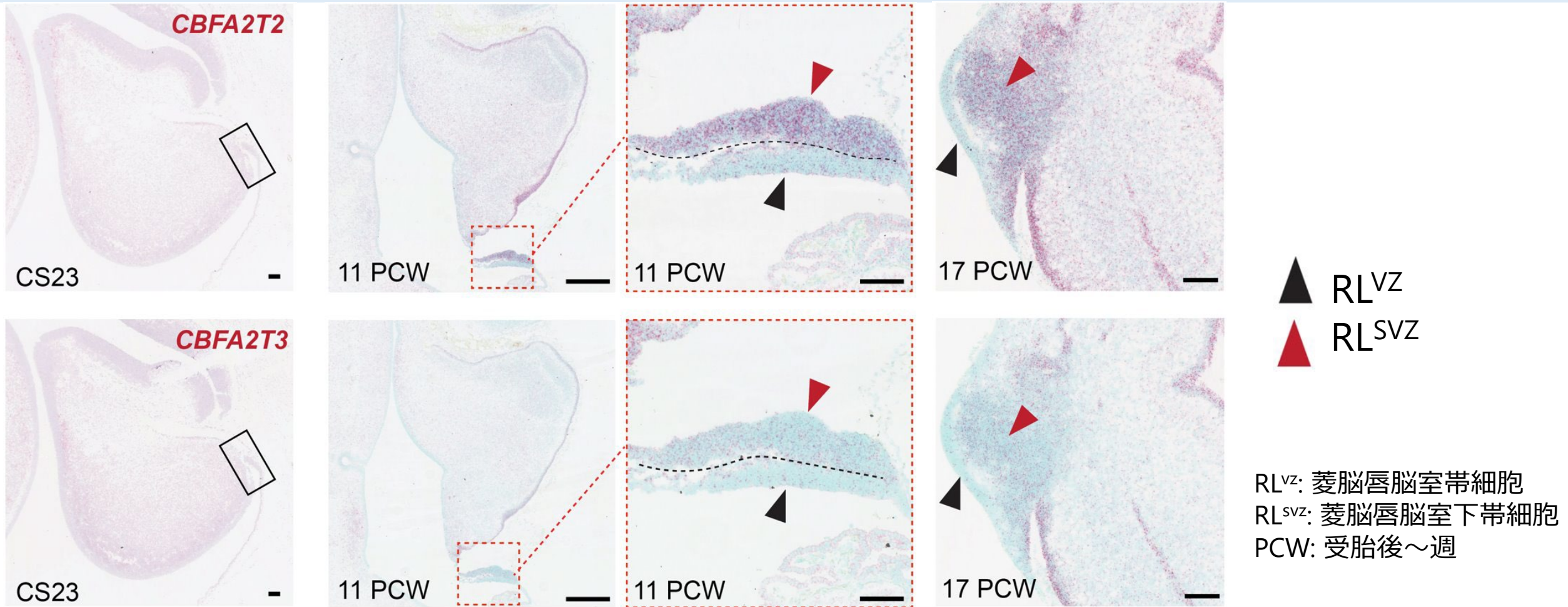


出典: Wikipedia ヒトの脳 発生・発達 (2022年9月26日13時参照)
<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%92%E3%83%88%E3%81%AE%E8%84%B3>



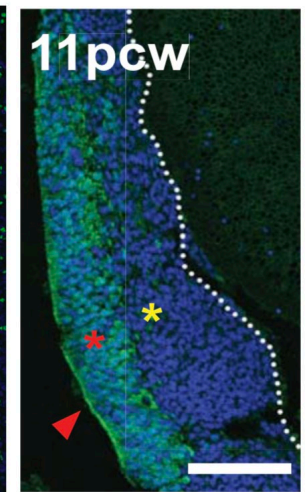
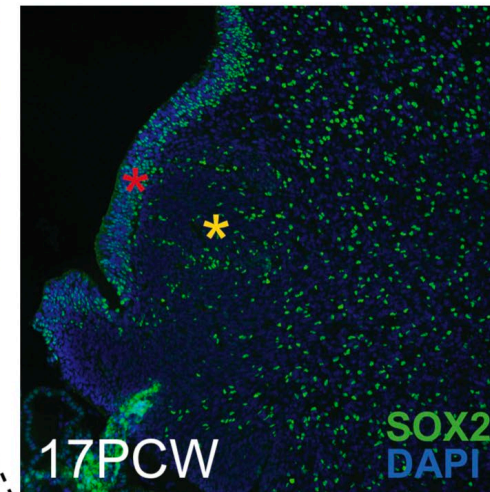
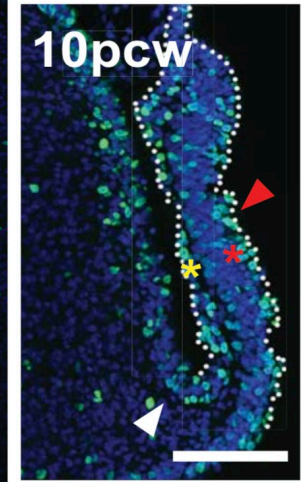
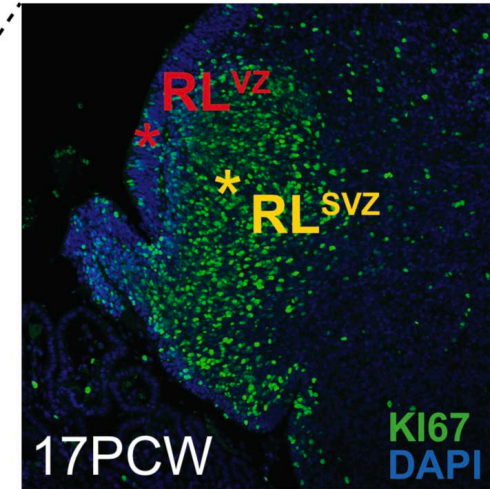
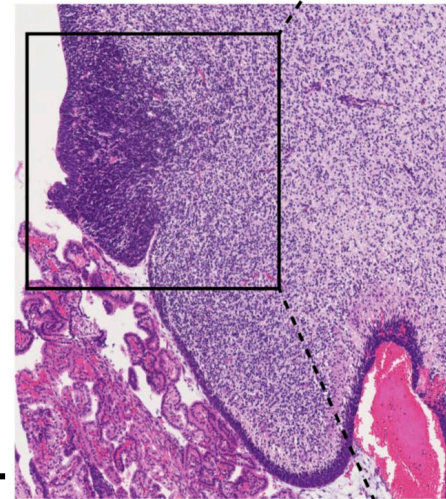
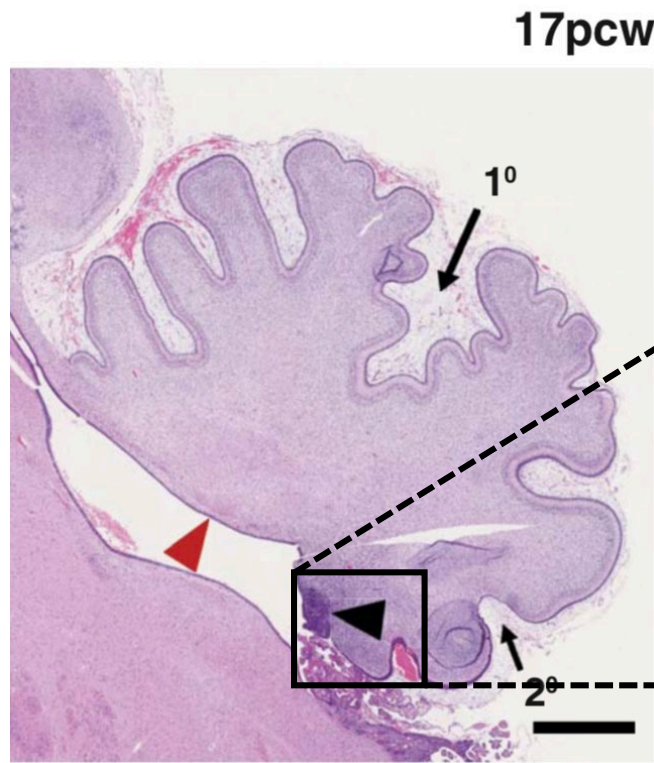
出典: Wikipedia Rhombic lip (2022年9月26日13時参照)
https://en.wikipedia.org/wiki/Rhombic_lip

CBFA2T2とCBFA2T3は菱脳唇脳室下帯細胞(RL^{SVZ})で発現



Hendrikse, Haldipur, et al., *Nature* (Accepted)

ヒトの菱脳唇の分割は特徴的



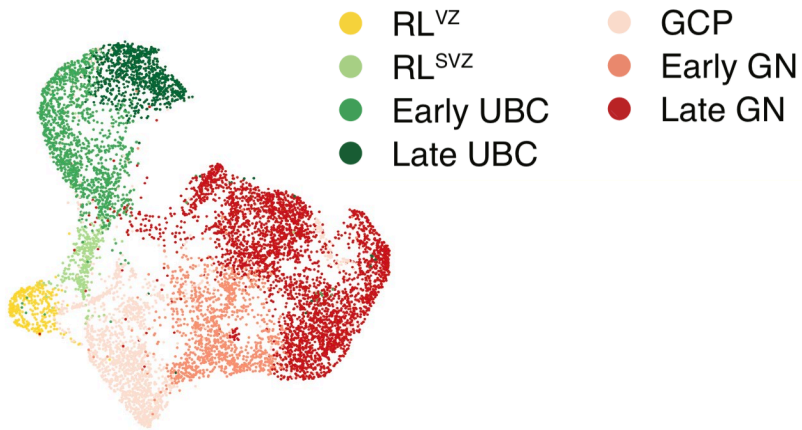
マウスでは見られない。

マウス脳との比較では髄芽腫の起源細胞は十分解明されない？

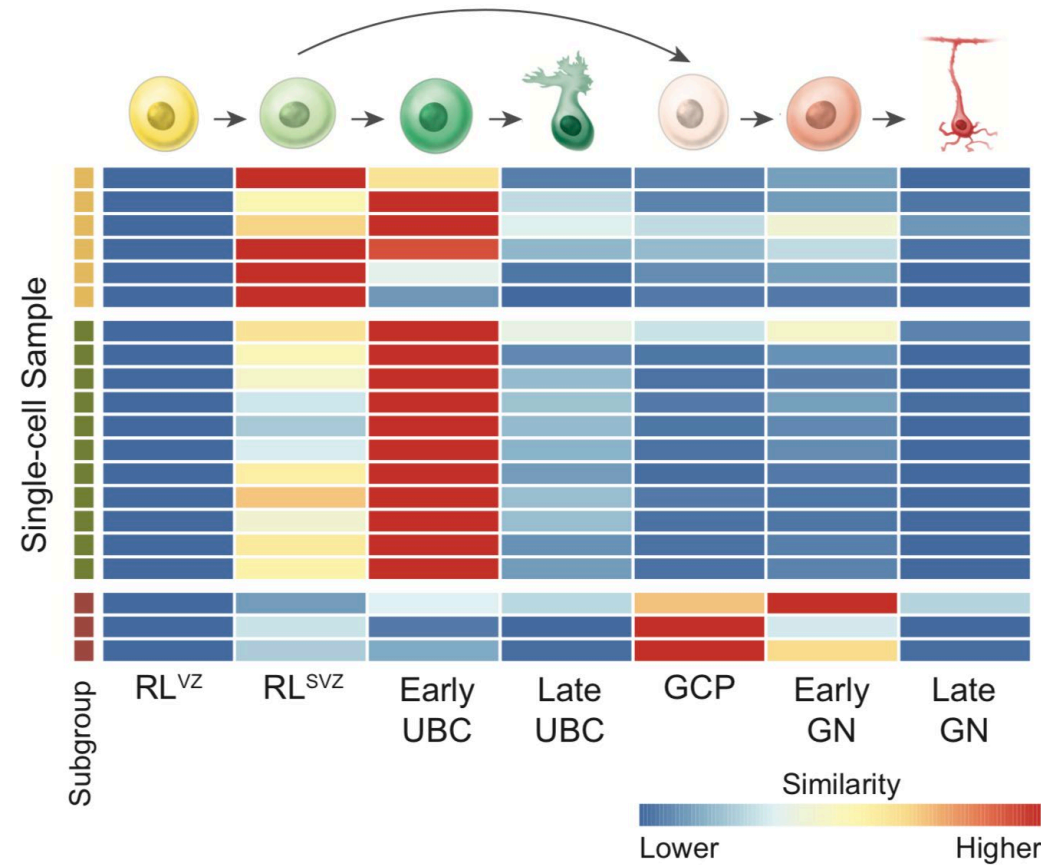
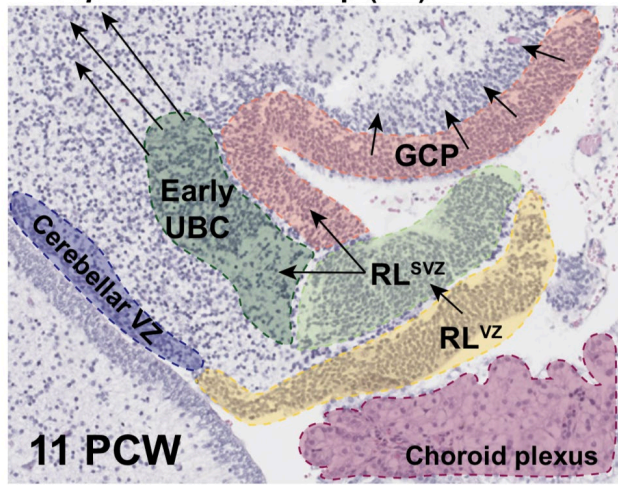
RL^{VZ}: 菱脳唇脳室帯細胞
 RL^{SVZ}: 菱脳唇脳室下帯細胞
 PCW: 受胎後～週

Haldipur et al., 2019, *Science*

Group 3及びGroup 4髄芽腫細胞は菱脳唇脳室下帯細胞 (RL^{SVZ})に似ている



H. Sapiens Rhombic Lip (RL):

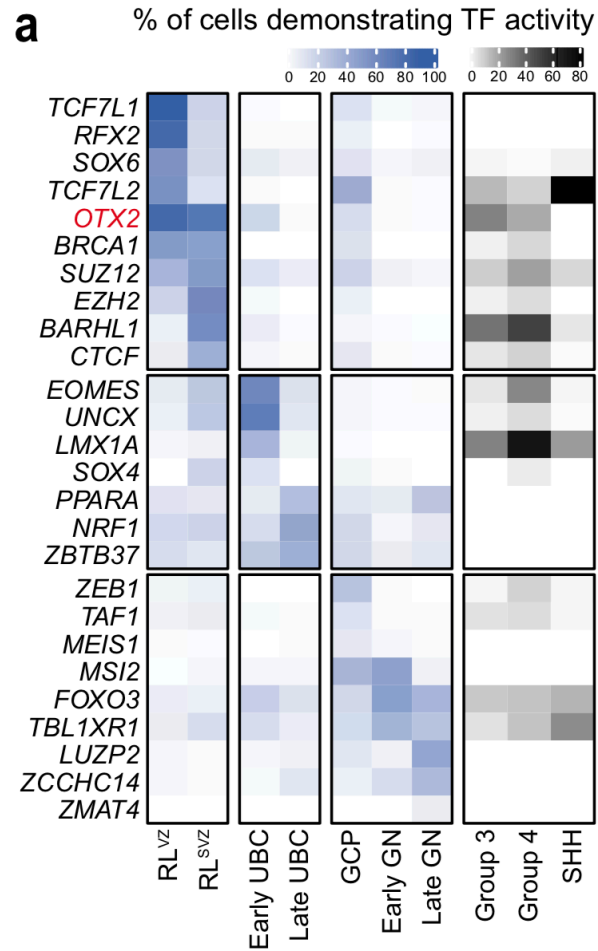


RL^{VZ}: 菱脳唇脳室帯細胞
 RL^{SVZ}: 菱脳唇脳室下帯細胞
 UBC: 単極刷毛細胞
 GCP: 顆粒細胞前駆細胞
 GN: 顆粒ニューロン

Choroid plexus: 脈絡叢
 PCW: 受胎後～週

Hendrikse, Haldipur, *et al.*, *Nature* (Accepted)

菱脳唇と髄芽腫で共通する転写因子

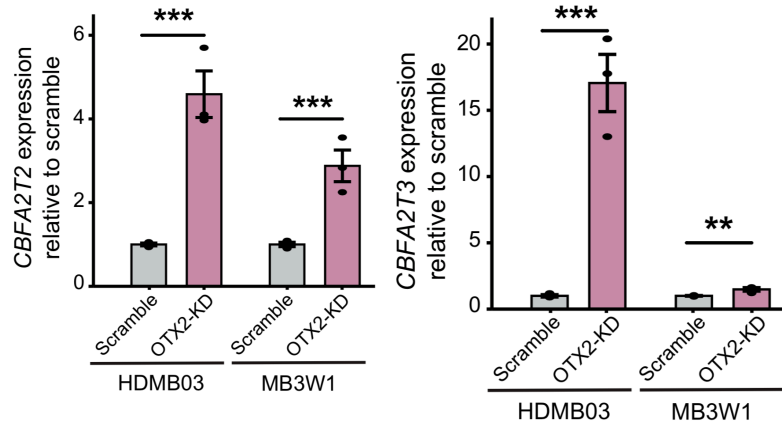


菱脳唇の細胞と髄芽腫の転写因子を比較。
 共通する因子としてOTX2が含まれる。
 (OTX2はGroup 3の一部の症例で高度増幅が生じている)

TF: 転写因子

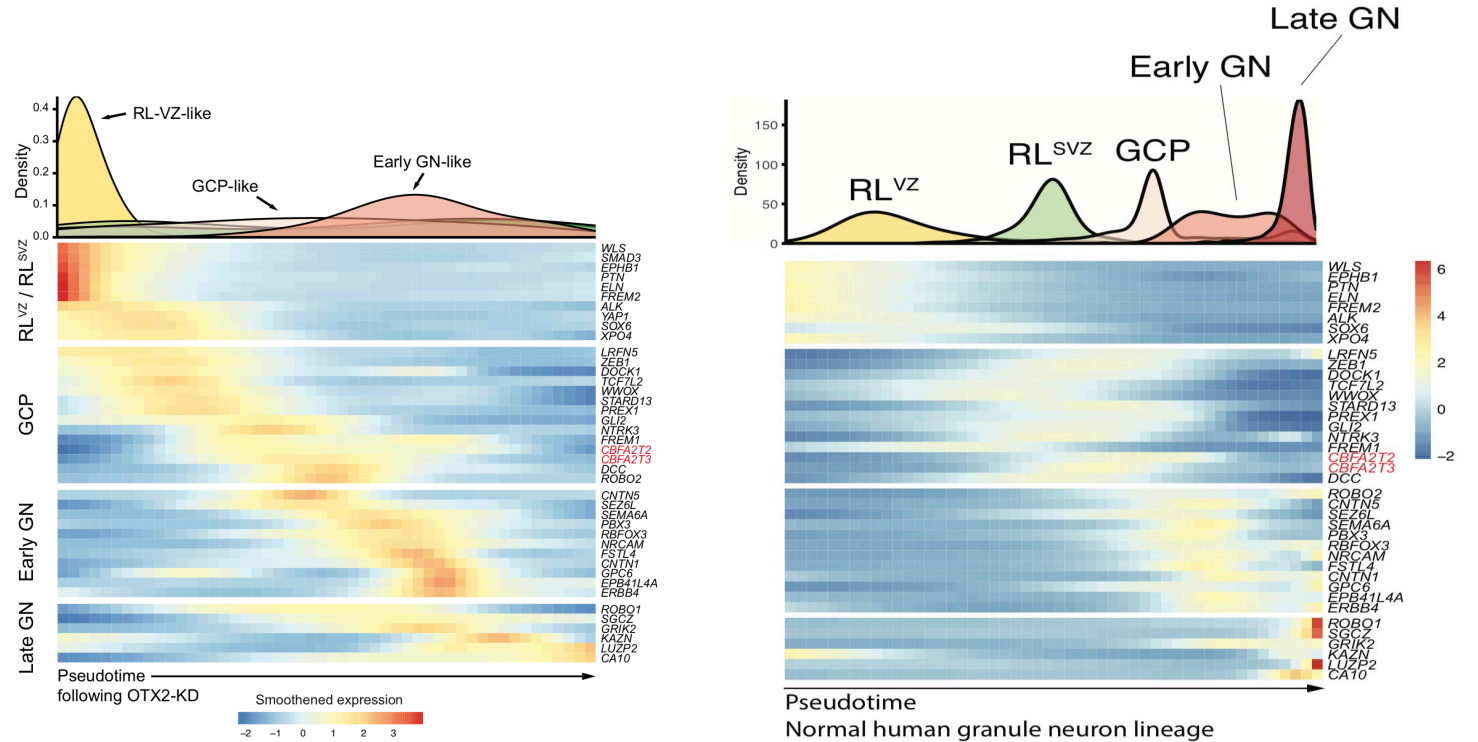
Hendrikse, Haldipur, *et al.*, *Nature* (Accepted)

OTX2はCBFA2T2を抑制している。



OTX2をノックダウン(抑制)するとCBFA2T2の発現が上がる。

OTX2をノックダウンするとすぐにCBFA2T2が発現してくる



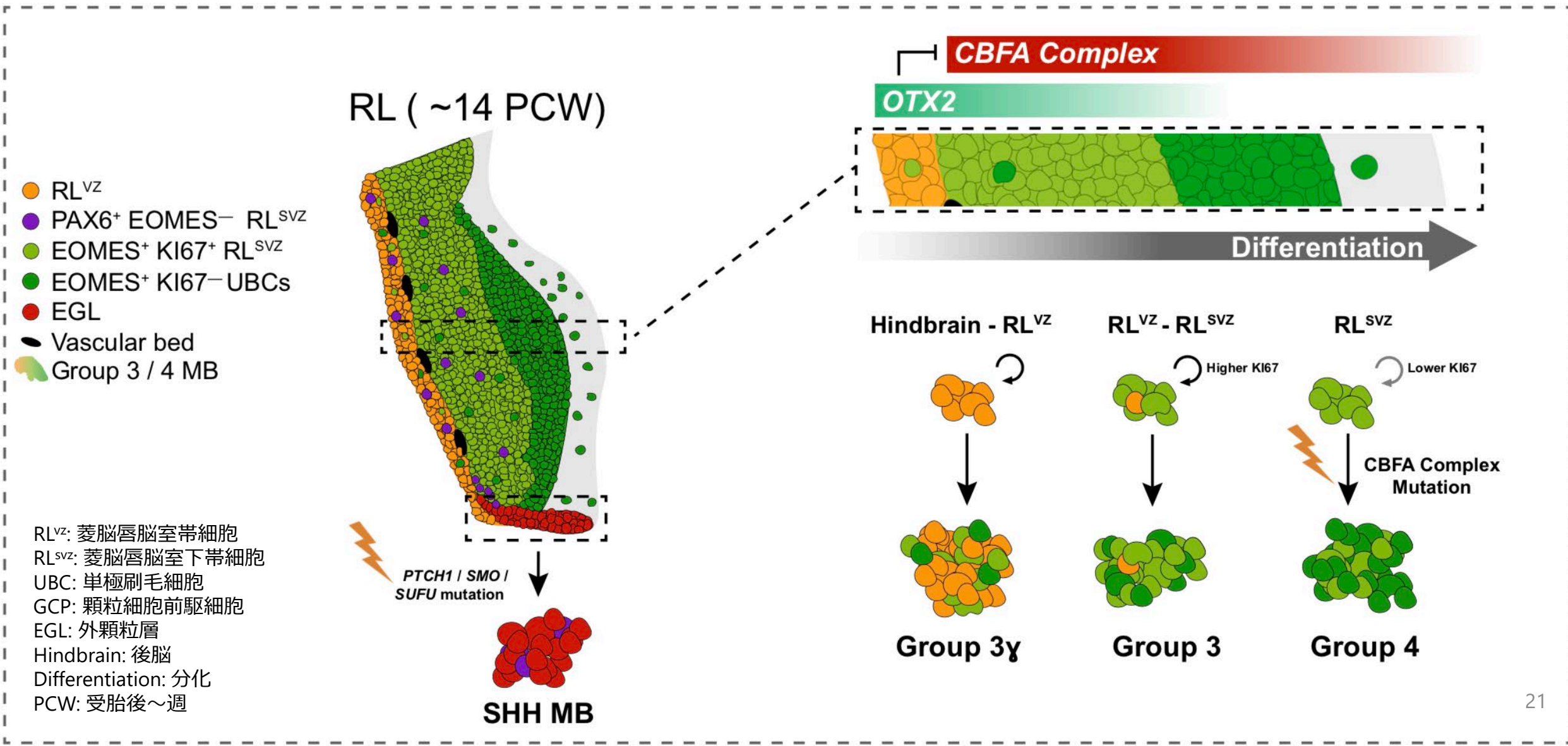
With Tamra Ogilvie Lab

Hendrikse, Haldipur, et al., Nature (Accepted)

RLVZ: 菱脳唇脳室帯細胞, RLsvz: 菱脳唇脳室下帯細胞, UBC: 単極刷毛細胞
GCP: 顆粒細胞前駆細胞, GN: 顆粒ニューロン



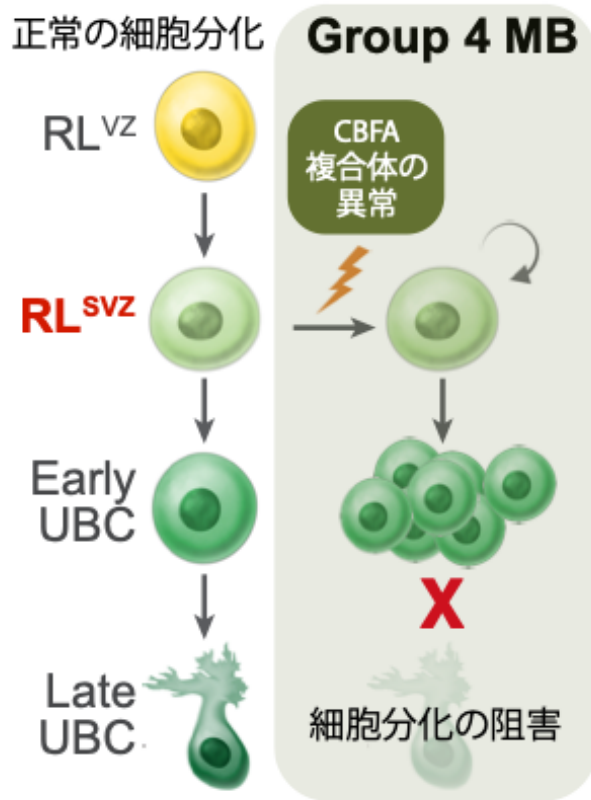
Medulloblastoma (MB) transformation:



4.本研究により髄芽腫の発生メカニズムが解明



Group 4髄芽腫発生モデル



CBFA複合体の異常により菱脳唇脳室下帯細胞(RL^{SVZ})
および単極刷毛細胞(Early UBC)分化異常が生じる。

↓
本来、出生時には消滅している細胞が遺残。

↓
変異を有する異常な細胞が、悪性化することで
Group 4髄芽腫が発生

菱脳唇脳室下帯細胞(RL^{SVZ})
早期単極刷毛細胞(Early UBC)

5. 展望



起源細胞の同定により期待できること

1. 細胞分化に関連した治療法の開発

神経細胞の分化がどのように制御されているか、その詳細はまだ十分わかっていない。今後、分化の制御が解明されれば治療開発につながる可能性がある。薬剤スクリーニングなどは現在でも可能。

2. 予防的治療の開発

発症前に外科的切除ができれば予防的治療ができる。非侵襲的にスクリーニングする手法が現時点ではない。

3. 動物モデルの確立

マウスでは菱脳唇が確認できていないため、マウスモデルは難しい可能性。サルなどの動物で認められれば確立ができる可能性。iPS細胞を分化誘導して、変異を導入することも可能と考えられる。

結論

- CBFA複合体の異常がGroup 4髄芽腫で生じている。
- CBFA複合体の異常により、菱脳唇の脳室下帯細胞やそこから分化した初期の単極刷毛細胞が分化できなくなり本来消滅する細胞が遺残してしまう。
- 出生後の菱脳唇の遺残の報告は散見されており、このような異常な遺残細胞のスクリーニングは予防治療につながる可能性がある。

共同研究機関

国立がん研究センター研究所

脳腫瘍連携研究分野

Suzuki Lab

- Takuma Nakashima
- Yusuke Funakoshi
- Shohei Nambu
- Hiromichi Suzuki



The Hospital for Sick Children, Canada Taylor Lab

- Liam Hendrikse
- Olivier Saulnier
- Maria Vladoiu
- David Scott
- Sachin Kumar
- Laura Donovan
- Florence Cavalli
- Anders Eriksen
- Alex Rasnitsyn
- Evan Wang
- Jiao Zhang
- Winnie Ong
- Cory Richman
- Patryk Skowron
- Craig Daniels
- Xiaochong Wu

- Michelle Ly
- David Przelicki
- Kyle Juraschka
- Namal Abeysundara
- Carolina Nor
- Raul Suarez
- Jonelle Pallotta
- John Lee
- Stephen Armstrong
- Abhi Visvanathan
- Antony Michaelraj
- Randy Van Ommeren
- Polina Balin
- Olga Sirbu
- Chai-Jin Lee
- Ncedile Mankahla
- Kaitlin Kharas
- Vernon Fong

Seattle Children's Research Institute, USA Kathleen Millen Lab

- Parthiv Haldipur
- Jake Millman
- Alexandria Sjoboen
- Kimberly Aldinger

University of Manitoba, Canada

Tamra Ogilvie Lab

- Victor Gordon
- Chris Porter
- Ludivine Coudière-Morrison

Brad Doble Lab

- Mohammad Shokouhian

