

## [課程—2]

### 審査の結果の要旨

氏名 高見浩数

本研究は中枢神経胚細胞腫の病態を明らかにするために、腫瘍マーカーであるヒト絨毛性ゴナドトロピン(human chorionic gonadotropin: hCG)の発現解析と網羅的遺伝子発現(トランスクリプトーム解析)、ゲノム構造・転写産物の構造解析を、次世代シーケンサーである RNA シークエンスと全ゲノムシーケンセスを用いて試みたもので、下記の結果を得ている。

1. ホルモン値の代表である hCG mRNA の発現解析を、全ての組織型を含む 94 検体の胚細胞腫において、定量的 PCR を用いて行った。結果、ほとんど全て(93.3%)の胚細胞腫において hCG が発現していることが確認された(正常脳と比べて  $1.09 \times 10^0 - 1.40 \times 10^5$  倍)。また germinoma においては発現のパターンは様々で( $1.09 \times 10^0 - 5.88 \times 10^4$  倍)、二峰性の分布ではなくなだらかに連続的な分布を示した。すなわち hCG 発現の有無によって germinoma を 2 型に分類することはできなかった。Germinoma において hCG 発現と予後との相関は明らかでなかった。このことから、基本的に全ての胚細胞腫は hCG を産生するポテンシャルがあることが示された。これまで臨床の場において hCG の値により症例を二分し治療の強弱を決めているが、hCG を治療選択の根拠に用いることには慎重になるべきであり、また組織特異的ではないということも認識すべきであるという結論に至った。
2. 本研究においては RNA シークエンスと whole genome sequence (WGS)によりゲノム構造異常を同定して将来的な標的治療のターゲットにつなげることと、胚細胞腫の特徴的な発現プロファイルを明らかにし、胚細胞腫の病態に迫ることを目的とした。様々な組織型を有する 62 検体の胚細胞腫と正常組織(脳・精巣)について RNA シークエンスを施行した。発現プロファイルの解析結果としては germinoma と non-germinoma は明確に異なる所見を示し、特に germinoma は始原生殖細胞(primordial germ cell: PGC)に特徴的な遺伝子 *TCL1A*, *DAZL*, *MAEL*, *UTF1*, *PIWIL2* や、減数分裂のマーカーである *SYCE1* の高発現が見られ、germinoma の起源細胞が PGC であるという仮説を裏付けるものだった。Yolk sac tumor は extracellular matrix に関する遺伝子の高発現が特徴的だった。また germinoma は発現レベルで 3 型に分かれ、それぞれ、Group1:免疫反応、Group 2:有糸分裂、Group 3:細胞内活動、をそれぞれ特徴とする遺伝子群により特徴づけられた。Group1 は病理所見でリンパ球浸潤が多く、最も予後が良好で、また年齢分布は 20 代以降に偏る傾向があり、臨床的にも特異な所見を呈した。Group2 は腫瘍細胞密度が最も高く、また最も予後が悪かった。本研究の胚細胞腫のデータと公共データベース(Gene Expression Omnibus)に登録されているヒト発生初期の細胞と PGC、胎児幹細胞(embryonal stem cell: ESC)の発現データとの主成分解析を行うことにより、germinoma は PGC の系譜、non-germinoma は ESC の系譜の発現を示していることがわかり、それぞれの腫瘍型の起源細胞を示唆するものと考えられた。

3. RNA上の融合遺伝子は germinoma よりも non-germinoma に有意に多く検出された(1 検体あたり 25.2 vs 39.6,  $p=0.0014$ )。この中で複数の検体にわたって見られる融合遺伝子をさらに解析したところ、Xq13.1 に存在し隣り合う遺伝子である *ARR3* と *RAB41* に転写レベルでの融合が検出された。この融合遺伝子は胚細胞腫、特に germinoma と yolk sac tumor に特異的に検出された。T98G cell line にプラスミドベクターを用いて導入し、安定クローンを作成して機能解析を行ったところ、この融合遺伝子は細胞の遊走能・浸潤能を亢進させ、一方で増殖能を低下させることが示された。一方で NIH3T3 cell line にレンチウイルスベクターを用いて導入し、soft-agar colony formation assay を施行したところ、足場非依存性増殖能を与えるという所見はなかった。この融合遺伝子は transcription-induced gene fusion (TIGF) の 1 つであると考えられた。遊走能を高める点は、胚細胞腫が PGC の異所性の遊走により生じると考えられていることと何らかの関係があるかもしれないと思われた。さらに機能解析を進めることで、将来的な診断、治療における有用な異常として有望になり得る可能性があると考えられた。
4. WGS による構造異常の解析については 2 症例の germinoma と 2 症例の yolk sac tumor の合計 4 症例について行った。この結果、germinoma ではゲノム構造異常は少数(5, 10)であり、yolk sac tumor では圧倒的に多くの構造異常(78, 105)が検出された。Yolk sac tumor の 1 例では染色体 1q21-44 の 95Mb の配列の中に 62 の構造異常が集積しており、chromothripsis を想起させる所見と言えた。複数の症例にわたって見られる構造異常はなく、今後胚細胞腫の病態に深く関わると考えられる構造異常を同定するために、引き続き検証を行う必要があると考えられた。

以上、本論文は中枢神経胚細胞腫におけるトランスクリプトーム解析と全ゲノムシーケンス解析により、発現と構造異常についての新たな知見を示し、これまで未知に等しかった胚細胞腫の病態の解明につながる大きな進歩であると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。