

論文の内容の要旨

論文題目 成人視床神経膠腫におけるヒストン H3F3A 変異

氏名 相原 功輝

2012年に小児膠芽腫において30%以上の症例でH3F3Aの体細胞変異が存在することが報告された。K27MとG34R/Vの2つのhotspotがあり、K27M変異は若年者(年齢中央値11歳、5-29歳)の脳の正中線上(脳幹、視床、脊髄など)に発生する膠芽腫に認められた。脳幹部神経膠腫ではH3F3A K27M変異について、その頻度や年齢分布、予後への影響などが報告されたが、視床神経膠腫についてはそのような報告がない。またほとんどが小児例である脳幹部神経膠腫と異なり視床神経膠腫は成人に多い腫瘍であることから、成人視床神経膠腫におけるH3F3A K27M変異の頻度や年齢分布、予後への影響を明らかにすることを目的とし、様々な年齢層の患者腫瘍検体を用いてH3F3A K27M変異の有無を調べ、H3F3A K27M変異による全生存期間の違いを Kaplan-Meier 法により検討した。さらに視床神経膠腫が如何にして腫瘍形成されるのかを調べる為に、ターゲットシーケンスによる639遺伝子の網羅的遺伝子変異解析を行い、各腫瘍がどのような遺伝子変異を有するかを検討した。神経膠腫に頻度高く認められるTERTプロモーター領域の遺伝子変異については、ターゲットシーケンスのキャプチャー領域に入っていなかった為、サンガーシーケンスにて解析した。また神経膠腫はH3F3A K27M, G34R/V, IDH変異などの遺伝子変異によって異なるDNAメチル化プロファイルを持つことが知られており、裏を返せばメチル化プロファイルを見ることでどのような成り立ちの腫瘍かを推察することが可能である。アレイ技術を用いた網羅的メチル化解析により各腫瘍がどのようなメチル化プロファイルを持つのかも合わせて検討した。

18例の高悪性度視床神経膠腫の内、10例(56%)の症例がH3F3A K27M変異を有していた。注目すべきはその年齢分布で、50歳未満の症例では11例中10例(91%)でH3F3A K27Mの変異を認めたのに対し(年齢中央値38歳、17~46歳)、50歳以上の7症例では1例もH3F3A K27M変異を認めなかった。H3F3A K27M変異を有する例は有さない例に比較して有意に年齢が若かった(34.2 vs 61.6歳; P=0.0003)。また、低悪性度であるびまん性星細胞腫の2例では、年齢がそれぞれ29歳、30歳と50歳未満であったにも関わらずH3F3A K27M変異を認めなかった。

ターゲットシーケンスは14例で施行したが、変異数の多い2例を除くと、recurrentな変異は既知の遺伝子のみであった。H3F3A K27M変異を持つ高悪性度神経膠腫においてTP53(2/7 [28.6%]), ATRX(2/7 [28.6%]), NF1(3/7 [42.9%])の変異を認め(共にH3F3A wild-type

症例は 0/4 [0%]、*H3F3A* wild-type 症例では、*EGFR* (2/4 [50%])、*TERT* プロモーター領域 (2/4 [50%]) の変異を認めた (共に *H3F3A* K27M 変異症例では 0/7 [0%])。 *H3F3A* K27M 変異腫瘍は global に H3K27me3 が減少することが腫瘍化メカニズムの一つとして考えられているが、高悪性度 *H3F3A* wild-type 症例に H3K27 を修飾する *EZH2*, *KDM6A*, *EP300*, *CREBBP* の遺伝子変異は認めず、高悪性度 *H3F3A* wild-type 症例は H3K27 の修飾異常を介さない腫瘍形成機序であることが示唆された。

膠芽腫は、そのメチル化プロファイルにより 6 群に分けることが出来ると報告されている。つまり、*IDH* 変異、*H3F3A* K27M 変異、G34 変異を持つ腫瘍はそれぞれ特有のメチル化プロファイルを持つ。そしてその他の膠芽腫は、”classic”, ”mesenchymal”, ”PDGFRA”の 3 つのプロファイルに分類される。14 例の高悪性度神経膠腫について Infinium HumanMethylation450 BeadChip (Illumina) を用いて網羅的メチル化解析を行い、公開されている 136 例のメチル化データと合わせて unsupervised clustering を行った。*H3F3A* K27M 変異例は 9 例全例が *H3F3A* K27M 変異腫瘍カテゴリーである”K27”に分類され、均一で特徴的なメチル化プロファイルを呈した。一方、*H3F3A* K27M 変異を有しない腫瘍は”K27”に分類されず、GBM9 は”mesenchymal”に、また GBM12、GBM15 は”classic”にというように、異なったメチル化プロファイルを呈することがクラスタリング解析により明らかとなった。また、”classic”, ”mesenchymal”, ”PDGFRA”のメチル化プロファイルを持つ膠芽腫は、ほとんどが成人の大脳半球に発生する膠芽腫であり、*H3F3A* K27M 変異を有しない腫瘍は大脳半球に発生する膠芽腫に似ていることが示唆された。

視床高悪性度神経膠腫の全生存期間は、膠芽腫が 8.9 ヶ月、退形成性星細胞腫は 15.6 ヶ月と、それぞれ膠芽腫全体、退形成性星細胞腫全体の全生存期間に比べると悪い結果であった。これは視床高悪性度神経膠腫が脳深部に存在するため、予後因子である腫瘍摘出率が低いこと、また予後良好因子である *IDH* 変異を認めないこと、また治療薬であるテモゾロミドの治療効果に負の影響を与える *MGMT* のプロモーター領域がメチル化されていない割合が 11/14 (79%) と高いことなどが考えられた。*H3F3A* K27M 変異の予後に与える影響については、脳幹部神経膠腫においては *H3F3A* K27M 変異は予後不良因子であったが、視床高悪性度神経膠腫においては *H3F3A* K27M 変異症例、*H3F3A* wild-type 症例で予後に差は認めなかった。

本研究により、視床高悪性度神経膠腫においては、小児や青年などの若年者だけでなく青壮年にも *H3F3A* K27M 変異が高頻度に存在することが明らかとなった。また、50 歳未満に多い *H3F3A* K27M 変異を持つ視床高悪性度神経膠腫は、その全てが脳幹部の *H3F3A* K27M 変異を持つ小児膠芽腫と同様の均一なメチル化プロファイルを持っていたのに対し、50 歳以上に多い *H3F3A* wild-type の視床高悪性度神経膠腫は、大脳半球の成人膠芽腫と同様のメチル化プロファイルを持ち、かつ症例間でそのプロファイルは均一でなかった。遺伝子変異解析の結果とも合わせると、50 歳以上に多い *H3F3A* wild-type 視床高悪性度神経膠腫は 50 歳未満に多い *H3F3A* K27M 変異を持つ視床高悪性度神経膠腫とは腫瘍の成り立ちが異なる

ることが示唆された。

H3F3A wild-type の視床高悪性度神経膠腫に対しては、通常の大脳半球の高悪性度神経膠腫の治療成績の向上、さらには患者の年齢層が高いため高齢者の治療成績向上に向けた治療の改善、開発が求められるであろう。これに対して、個別化医療が推進されている現在、今回成人にもその頻度が高いことが明らかとなった *H3F3A* K27M 変異を持つ視床高悪性度神経膠腫に対しては、現在開発されつつある *H3F3A* K27M をターゲットにした治療の有効性が期待されるため、成人視床神経膠腫において *H3F3A* K27M 変異を同定する意義は高く、その特徴的な年齢分布を示した本研究結果は意義深いものと考えられた。