

審査の結果の要旨

氏名 関 正史

本研究は、小児腫瘍においても稀であり、かつ難治性である胸膜肺芽腫(PPB)と横紋筋肉腫(RMS)に着目し、分子病態の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 散発性 PPB において、92%に *DICER1* 変異が認められ、*DICER1* 変異を有していた 11 例のうち、8 例(73%)はコンパウンドヘテロ変異もしくはホモ変異により、*DICER1* の両アレル変異を生じ、正常機能の *DICER1* が腫瘍内において存在していないことが示唆された。また、*DICER1* の RNase IIIb ドメイン内に含まれミスセンス変異が集中しており、特に G1809 に 4 例変異が認められ、散発性 PPB における変異のホットスポットであると考えられた。さらに、miRNA シーケンス解析により、RNase IIIb ドメイン内のミスセンス変異により、5'-miRNA の産生低下と 3'-miRNA の産生増加が認められ、miRNA 産生に異常をきたしていることが示され、miRNA のプロファイル異常が腫瘍発生に関与していることが推測された。
2. 散発性 PPB における *DICER1* 以外の遺伝子異常として、*TP53* 変異が 5 例(42%)において検出された。またコピー数異常として、17 番染色体短腕(17p)の欠失は 73%に認められた。*TP53* 変異を有する症例はすべて 17p の欠失を伴っており、*DICER1* に次ぐセカンドヒットである可能性が示唆された。
3. RMS におけるエクソーム解析とターゲットディープシーケンスにより、*FGFR4* 経路の遺伝子変異(*FGFR4*、*PTPN11*、*GAB1*、*PIK3CA*、*PTEN*、*HRAS*、*KRAS*、*NRAS*、*NFI*)が 40% (24/60)と高頻度に認められた。SNP アレイにより検出された *FGFR4* 経路に関連するコピー数異常として *FRS2* の高度増幅、細胞周期に関連するコピー数異常として、*CDKN2A/B* の欠失、*TP53* の欠失、*MDM2*、*CDK4* の高度増幅が認められた。

4. 50例のRMSに対しDNAメチル化アレイを施行し、階層的クラスタリングにより4群に分類した。この4群は病理組織とほぼ一致した分類となり、2つの群(E1、E2)の組織型はほぼERMS、残りの2群(A1、A2)の組織型はARMSであった。E1/E2群とA1/A2群を比較し、E1/E2群で有意に高メチル化が生じている遺伝子として*FGFR4*経路に含まれる*PTEN*を抽出した。*PTEN*の高メチル化はE1/E2群において91% (20/22)と高頻度に認められ、ERMSの特徴的な異常であると考えられた。
5. DNAメチル化プロファイルにより分類された4群と同定された遺伝子変異、コピー数異常の関連を検討し、*FGFR4*経路に関連する遺伝子変異は、A1/A2群に比べ、E1/E2群に有意に多く、特にE2群に集中にして認められた。そのうち、*FGFR4*、*PTPN11*、*PIK3CA*はE1群に比し、E2群で有意に多く認められた。またE2群はE1群と比べ、*TP53*変異も有意に多く認められた。
6. DNAメチル化プロファイルによる分類の4群と予後との関連を比較したところ、E1群が予後良好な群として有意差が認められた($P = 0.045$)。さらにE1/E2群において、*TP53*変異と*FGFR4*経路の変異(*FGFR4*、*PTPN11*、*PIK3CA*、*PTEN*)との関連も検討した。*FGFR4*経路の遺伝子変異の有無は予後と関連はなく、*TP53*変異の有無とE2群で有意に予後は不良であった。しかし、E1群には死亡例がなく、*TP53*変異の有無よりE1/E2群の比較が顕著に予後の違いを反映しており、より有用な指標であると考えられた。

以上、本論文は統合的なゲノム解析により、散発性PPBにおいて*DICER1*の両アレル変異を同定し、またRMSにおいては予後と関連するDNAメチル化プロファイルによる新規分類を提唱した。本研究は、今後の小児難治性固形腫瘍における新規治療の開発や、治療法選択に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。