

審査の結果の要旨

氏名 星野 論子

本研究は神経芽腫において未だ役割が十分解明されていないエピジェネティック制御の役割について明らかにするため、大量検体が短時間で解析可能となる次世代シーケンサーなどのハイスループット解析とアレイ解析技術を駆使して、神経芽腫におけるエピジェネティック制御の遺伝学的全体図の作成を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ターゲットキャプチャー法を用いた神経芽腫 23 検体におけるエピジェネティック制御 80 遺伝子の変異解析では、2 例以上の重複する腫瘍特異的変異を認めた遺伝子は、*ASH1L* と *CHD7* の 2 遺伝子であり、再発かつ転移巣である 2 検体において認められた。また、他の腫瘍特異的変異は、*KDM5C*、*MLL*、*MLL3*、*SMARCA4*、*RBBP4* で認められ、Trithorax group (TrxG) や Switch/Sucrose non-fermentable (SWI/SNF) 複合体などの転写を活性化するとされる複合体に属している遺伝子が多いことが示された。
2. 神経芽腫 81 検体を追加して行われた、ターゲットディープシーケンス解析では、上記 1 で腫瘍特異的変異が認められた 7 遺伝子(*ASH1L*、*CHD7*、*KDM5C*、*MLL*、*MLL3*、*SMARCA4*、*RBBP4*)に加え、神経芽腫で最も変異頻度が高く報告されている *ALK*、また神経芽腫で変異の報告があるエピジェネティック制御 3 遺伝子(*ARID1A*、*ARID1B*、*ATRX*)を標的として行われた。全症例を通じて変異の頻度が最も高かったのは、*ALK*、*ARID1B* であり、8/102 (7.8%) で認められた。また、4/102 (3.9%) と頻度は高くないものの、神経芽腫で報告のない新規の腫瘍特異的変異が *CHD7* において認められた。
3. エピジェネティック制御遺伝子の変異解析と SNP アレイ解析を組み合わせることにより、エピジェネティック制御遺伝子異常は、全体の 40/102 (39.2%) で検出された。特に、異常は SWI/SNF 複合体に集中し、排他的に生じていた。以上より神経芽腫において SWI/SNF 複合体が重要である可能性が示唆された。
4. エピジェネティック制御遺伝子の変異解析、ゲノムコピー数変化および臨床情報との関連性を検討したところ、エピジェネティック制御遺伝子異常は、病期 4 や再発例、年長児などの予後不良因子に随伴していた。また、エピジェネティック制御遺伝子異常群は、その他の群と比較し 5 年 Event Free Survival (EFS) が、有意に予後不良であった。エピジェネティック制御遺伝子の異常は、それだけでは予後因子とはなることは証明できなかったが、病勢の進行に影響を及ぼしている可能性は否定できず、腫瘍の悪化に関与している可能性が示唆された。

5. 神経芽腫 44 症例で行った網羅的メチル化解析の結果、神経芽腫においては、CpG island のメチル化パターンの違いにより Hyper-methylated 群、Intermediate-methylated 群、Adrenal-like 群の 3 つのサブグループが存在することが明らかとなった。エピジェネティック制御遺伝子の変異解析、SNP アレイ解析、臨床情報とメチル化解析の結果を統合すると、Hyper-methylated 群は、全例が病期 4 であり、MYCN 増幅と 1p 欠失、エピジェネティック異常症例が多く、また発症年齢が有意に高いなど、予後不良因子を伴っていることが明らかとなった。5 年 EFS は他の 2 群と比較し Hyper-methylated 群で予後不良の傾向があった。一方、予後良好とされる発症年齢が 18 ヶ月以下かつ hyperplod の症例は、Intermediate-methylated 群に集中していた。Adrenal-like 群は、約半数が MYCN 増幅症例であり、発症時年齢が低かった。本研究では、網羅的メチル化解析を行うことにより神経芽腫におけるメチル化パターンの遺伝学的特性と臨床的な特徴を見出した。
6. 公開データベースである Genome Expression Omnibus(GEO)より、同じメチル化解析のプラットフォームで神経芽腫 35 例を用いて網羅的メチル化解析をおこなっている Gomez らのデータを取得し、データの再解析を行ったところ、自験例と同様にメチル化パターンにより 3 群に分類され、遺伝学的特性と臨床的な特徴は類似していることが示された。
7. また、神経芽腫において CpG island methylatrimon phenotype (CIMP) は、MYCN 増幅のみならず病期 4、年長児、エピジェネティック制御遺伝子の異常を伴うことが多い症例であり、免疫応答に関する遺伝子が高メチル化していることが新たに明らかになった。

以上、本論文は神経芽腫において、統合的なエピジェネティック制御遺伝子の変異解析、ゲノムコピー数解析から、エピジェネティック制御遺伝子の異常が、腫瘍の悪性化に関与している可能性があること、網羅的メチル化解析により、メチル化のパターンにより神経芽腫が 3 群に分類され、遺伝学的特性と臨床的な特徴が類似していることを明らかにした。本研究は、これまで神経芽腫において十分解明されていなかったエピジェネティック制御の関与の解明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。