

論文の内容の要旨

論文題目 神経芽腫におけるゲノム異常の特性に関する研究

氏名 瓜生 久美子

神経芽腫は、神経堤細胞に由来する悪性腫瘍で主に副腎、交感神経節から発生する。その臨床像は発症年齢により自然退縮するものから、治療抵抗性の難治症例まで幅広く、臨床学的、病理学的にも非常に不均一な腫瘍と考えられている。進行神経芽腫においては、5年生存率が40%程度と予後不良であり、より効果を示す治療の開発が望まれる。近年 *anaplastic lymphoma kinase (ALK)*, *V-Myc Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Neuroblastoma Derived Homolog (MYCN)* 高度増幅などを筆頭にさまざまな遺伝子異常、ゲノムコピー数異常などが報告されているが、特に遺伝子変異については進行神経芽腫全体の約3割にしか認めず、多くはコピー数異常のみとなっている。神経芽腫におけるゲノム異常の全体像は十分解明されておらず、各ゲノム異常の相関関係や臨床像との関係も明らかではない。そこで、私は様々な病期の大規模検体を用いて、全体像を解析するとともに、近年神経芽腫の診断において重要性があると考えられつつある、*ALK* 免疫染色という病理学的手法も取り入れることで、神経芽腫におけるゲノム異常の特性と臨床像との関係を明らかにした。

方法としては、初発時の神経芽腫 500 検体を用いて、近年神経芽腫に関与するとされる 10 個の候補遺伝子 (*ALK*, *MYCN*, *ATRX*, *ARID1A*, *ARID1B*, *PHOX2B*, *PTPN11*, *HRAS*, *HRAS*,

NRAS) に対し、次世代シーケンスによるターゲットアンプリコンシーケンス、SNP アレイを用いたコピー数解析を行った。また初発時に十分な病理組織検体が得られた 259 例に対して、*ALK* 免疫染色を行った。

結果は以下のとおりである。10 個の候補遺伝子における遺伝子変異は *ALK* 9.4%、*ARID1B* 4.4%、*ARID1A* 2.4%、*ATRX* 2.0%を始めとして、合計 102 個検出された。一方 SNP アレイの結果、主なコピー数異常としては、*ALK* 高度増幅 1.6%、*MYCN* 高度増幅 30.6%、1p LOH 30.2%、11q Loss of heterozygosity(LOH) 28.2%、17 番染色体全増幅または 17q 増幅は 73.4%認められた。これらの遺伝子異常の特徴をもとに、神経芽腫を 6 つのサブグループ (A : *ALK* 変異/増幅群、 B : *ALK* 以外の遺伝子変異群、 C : *MYCN* 増幅群、 D : 11q LOH 群、 E : hyperdiploidy 群、 F : ゲノム異常を認めなかった群) に分類できた。それらは、病期、予後、初発時年齢などの、臨床学的特を有していた。また、全症例における、コピー数異常、*ALK* 変異/増幅、*MYCN* 増幅、*ATRX* 異常については相互排他性を検討したところ、*ALK* 変異/増幅と *MYCN* 増幅は相関し、*MYCN* 増幅は 1p LOH と相関するが、11q LOH とは排他的であることが大規模検体で確認できた。また 11q LOH については、3p LOH、4p LOH、6q LOH、19q LOH といったコピー数異常を伴いやすいことが同定され、単独異常ではないことが示された。*ALK* 変異/増幅群に関しては、*MYCN* 増幅を伴う群と伴わない群の 2 群に分かれ、2 群間に予後の差は認めなかったが、*MYCN* 増幅を伴う群に再発が多く、原発臓器が副腎であるという臨床学的特徴が認められた。神経芽腫の約 1 割と言われる 5 歳以上の症例については、様々な染色体における部分的な

コピー数異常を有していること、および 19 番染色体の LOH や 22q LOH が特徴的であることが示唆された。また 5 歳以上の症例においては 8p LOH の存在が予後不良因子となることが示唆された。次に再発症例と非再発症例につき比較検討した結果、*MYCN* 増幅、Stage 4、1pLOH、1q LOH、17q 増幅は無再発生存率が有意に低く、特に 11q LOH に 3p LOH を伴うと再発リスクが上がることを示された。一方で既存の神経芽腫国際病期分類 (International Neuroblastoma Staging System : INSS 病期分類) や Children's Oncology Group (COG) リスク分類における中間リスク群については、治療方針も定まっておらず、中間リスク群の中の予後良好群、予後不良群の抽出が必要と考えられる。本研究で提唱した 6 つのサブグループと、従来のリスク分類を組み合わせて評価した結果、INSS 分類 Stage3 についてはグループ A、B、C、D いずれも予後不良、COG 分類 Intermediate については、グループ A が予後不良の傾向にあった。

また、ALK 免疫染色により、ALK 陽性細胞数の比率をもとに神経芽腫を ALK スコア High 群と Low 群の 2 群に分類したところ、ALK スコア High 群は有意に予後不良であった。またサブグループとの比較により、ALK スコア High 群ではグループ A が予後不良、ALK スコア Low 群ではグループ C が予後不良となった。

本研究で得られた、遺伝子学的特徴をもとにした 6 つのサブグループの分類は、既存の病期分類やリスク分類、そして ALK スコアとの組み合わせにより、神経芽腫を詳細に分類することが可能になり、より細分化した治療戦略に貢献すると考える。特に、*ALK* 変異を有する群 (グループ A) でかつ、ALK スコア high の群はより予後が不良であることが示唆された。また、11q LOH

は以前より再発リスク因子と考えられてきたが、3p LOH を伴うことで再発のリスクが高くなる
ことが本研究において強く示唆された。5 歳以上の年長児の症例については、11q LOH 以外に 8p
LOH、19pLOH、19q LOH、22q LOH といった、新たなコピー数異常の特徴や予後因子が見出さ
れた。本研究は神経芽腫の病態の更なる解明に貢献し、かつ、ゲノム異常の臨床的意義を明らか
にした。本研究で得られたゲノム異常の特性をもとに神経芽腫のさらなる層別化が可能となり、
新規治療戦略の開発にも貢献するものと考えられる。