

氏名	中江俊介
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1113号
学位授与の日付	平成28年10月11日
学位論文題名	PCR-Based Simple Subgrouping Is Validated for Classification of Gliomas and Defines Negative Prognostic Copy Number Aberrations in <i>IDH</i> Mutant Gliomas 「PCR法でのグリオーマの遺伝子分類と <i>IDH</i> 変異型グリオーマにおける予後不良因子の同定」 PLOS ONE 2015 10(11): e0142750.
指導教授	廣瀬雄一
論文審査委員	主査 教授 倉橋浩樹 副査 教授 白木良一 教授 守瀬善一

論文内容の要旨

【緒言】 グリオーマは、従来その病理学的所見に基づき診断されてきたが、必ずしも臨床経過と一致しない症例も多く、近年、特にイソクエン酸脱水素酵素遺伝子(*IDH1/2*)変異及び第1染色体p腕・第19染色体q腕共欠失(1p19q共欠失)の有無が成人天幕上グリオーマの予後予測因子として非常に有用であることが報告されて以来、グリオーマの遺伝学的分類の重要性が認められてきた。我々は、摘出した成人天幕上グリオーマ組織に対しComparative genomic hybridization(CGH)法により全ての染色体のコピー数を解析し、コピー数異常(CNAs)に基づく分類を報告し、さらにそこに*IDH1*変異の有無を組み合わせることによって、より臨床経過に見合った分類を確立するための研究を行ってきた。しかしながら、CGH法を含めたコピー数解析は施行可能な施設が限定的であるため、より簡便な分子診断法が必要と考えられた。そこで、我々はPCR法を基盤として臨床的意義が高いと思われる遺伝子異常を検出し、これによる分類法の意義を検討した。また、CNAsによる分類も腫瘍の病態を理解する上で重要であるため、CNAsの情報もあわせて収集した。

【目的】 PCR法単独での成人天幕上グリオーマの遺伝子診断を行い、グリオーマの遺伝子診断をより簡便かつ汎用性の高いものにする、及び*IDH*変異型グリオーマの悪性度に関わるCNAsを抽出することを目的とした。

【対象】 1994年～2015年に藤田保健衛生大学及びその共同研究施設にて外科的に摘出された成人天幕上グリオーマ237例を解析対象とした。

【方法】 摘出したグリオーマ組織に対してCGH法による全染色体コピー数解析及びSanger法での*IDH1/2*、*TP53*変異解析を行った。*TP53*を選択したのは、*TP53*変異が1p19q共欠

失と共存しないことが知られており、1p19q共欠失解析の代用となると考えたためである。本研究は、藤田保健衛生大学及び共同研究施設の倫理委員会で承認を得ており、患者から遺伝子解析の同意書を得た上で行った。

【結果】 再発例を含むグリオーマ237例のうち226例に対し解析を行い、113例で*IDH*変異を認めた。*IDH*変異型グリオーマ初回手術例において*TP53*変異を持つ群は持たない群と比べ、統計学的に有意にPFSが短く($p = 0.0003$)、WHO grade IIとIIIの間での比較よりもその傾向は明確であった。また、*TP53*変異とCNAsの関連性について検討すると、*TP53*変異をもつ群のほとんどに+7q, +8q, -9p, -11pのいずれかが共通してみられた。*IDH*変異型グリオーマ初回手術例で+7q, +8q, -9p, -11pのいずれかをもつ群ともたない群を比較すると、持つ群の方が統計学的に有意にPFSが短かった($p < 0.0001$)。また、それらのCNAsのうち+7qはgrade II症例で多く認められ、再発例に新たに出現する例は認められなかったことから、+7qは比較的初期に起きうる変化で、+8q, -9p, -11pは悪性化に関する因子であることが示唆された。

【考察】 グリオーマの遺伝子診断については他にも*TERT* promoterや*ATRX*などが有用なマーカーとして報告されてきた。網羅的遺伝子解析では、*IDH1/2*及び-1p/19qまたは*TP53*変異が診断に有用との報告もあり(Brat DJ et al. N Engl J Med. 2015)、グリオーマの診断を簡便かつ正確に行うことを可能にしたことは意義があると考えられる。また、*TP53*変異をもつ*IDH*変異型グリオーマに共通してみられるCNAsを同定したことにより、今後腫瘍の悪性化への過程について解明することが期待される。

【結語】 *IDH*変異型グリオーマでは+7q, +8q, -9p, -11pをもつものが予後不良群と考えられた。また、これらのCNAsをもつ*IDH*変異型グリオーマのほとんどは*TP53*変異をもつため、PCR法単独で予後と関連性の強いグリオーマの診断が可能であると考えられる。

論文審査結果の要旨

近年の遺伝子解析技術の進歩に伴い、グリオーマの腫瘍分類法が従来の形態学的分類から遺伝子異常に基づいた分類へと移行しつつあり、本研究もその流れに基づいたものである。乏突起細胞系腫瘍に特徴的な第1染色体p腕と第19番染色体q腕の同時欠失(1p19q共欠失)と星細胞系腫瘍に特徴的な*TP53*変異は相互排他的になるが、イソクエン酸脱水素酵素(*IDH*)変異はこれらの腫瘍に共通してみられるので、腫瘍形成初期に起こったものと推測される。*TP53*変異は腫瘍進行に関与するが、1p19q共欠失自体が腫瘍進行に関わる機序は不明である。一方で、*IDH*変異は特定の位置の変異であり、gain of function mutationとして腫瘍形成機序へ関与している可能性があるが、今後の検討が待たれる。さらに+8q, -9pなどグリオーマの悪性化に伴って認められる異常は、これらの領域にグリオーマ悪性化の原因遺伝子が含まれる可能性があることが考えられる。方法論的には、*TP53*変異は免疫組織化学による評価法も考慮されたが、サンガー法による直接的な変異解析の方が有用性が高い。

以上の点から、十分に議論がなされた上で、本研究は、グリオーマの発生機序解明や治療方針決定因子の同定につながる可能性のある研究として高く評価され、学位論文として十分な質を持つものと判断された。