

## 論文の内容の要旨

論文題目:

小児悪性固形腫瘍における *hSNF5/INI1* 遺伝子の解析とその診断的意義

氏名: 宇野かおる

### 1. はじめに

1998年に、染色体22q11.2に位置する*hSNF5/INI1*遺伝子が malignant rhabdoid tumor (MRT)の原因遺伝子であることが証明された。酵母変異株で発見された sucrose non-fermenting (SNF) family のヒトでの相同体 *hSNF5* 遺伝子と human immunodeficiency virus (HIV) の核内取り込みにホスト側から働く酵素 inter-nuclear interactor-1 (*INI1*) の遺伝子が同じものであったことが判明し、名称は、上述のごとく2つの遺伝子の並記で示される。その後、*hSNF5/INI1* 遺伝子の変異は、rhabdoid 様の病理所見を部分的に含む脳腫瘍、atypical teratoid (AT)/rhabdoid tumors (RTs)、髄芽腫、choroid plexus carcinoma、central primitive neuroectodermal (cPNETs) 等でも報告され、さらに固形腫瘍以外でも、慢性骨髄性白血病や悪性リンパ腫の細胞株でも報告されてきた。しかし、MRT 以外の固形腫瘍でこの遺伝子の変異を認めた腫瘍の診断の再検討までなされている研究は無い。本研究では、*hSNF5/INI1* 遺伝子の異常を小児固形腫瘍で広く検索すると同時に、MRT 以外の診断で *hSNF5/INI1* 遺伝子の異常を認めた症例の診断に関し、病理学的、遺伝学的追加検討を行った。

### 2. 対象と方法

検索対象は、細胞株で、MRT 7株、神経芽腫 19株、横紋筋肉腫 8株、および Ewing 肉腫 7株の計 41株、新鮮腫瘍では、横紋筋肉腫 21例、髄芽腫 13例、Ewing 肉腫 8例、central primitive neuroectodermal tumor (cPNET) 14例、peripheral PNET 7例、glioma 5例、Wilms 腫瘍 4例、AT/RT 4例、MRT 3例、congenital mesoblastic nephroma (CMN) 3例、およびその他の小児腫瘍 8例 (骨肉腫、悪性黒色腫、神経肉腫、肺癌、肝芽腫、肝肉腫、未分化甲状腺癌、および未分化多発性皮膚癌、各々1例) を含む種々の小児固形腫瘍計 90例、さらにインフォームドコンセントの得られた正常コントロール 27例に対し、reverse transcription - polymerase chain reaction (PCR) 法、PCR-single strand conformation polymorphism 法等により *hSNF5/INI1* 遺伝子の異常の有無を解析した。また、MRT や AT/RT 以外の診断で *hSNF5/INI1* 遺伝子の異常を認めた細胞株 2株は、FISH 法を含めた染色体分析、N-myc 増幅、*MyoD1*、*myogenin*、*desmin* 遺伝子の発現、およ

び *PAX3-FKHR* キメラ転写物の有無を検索すると同時に、細胞株をヌードマウスへ移植して形成した腫瘍塊の免疫染色を含めた病理学的検索を行った。

### 3. 結果

MRT の細胞株 7 株中 7 株と新鮮腫瘍 3 例中 2 例、AT/RT 新鮮腫瘍 4 例中 2 例に *hSNF5 /INI1* 遺伝子の変異を認めた。それ以外の小児固形腫瘍では、横紋筋肉腫の細胞株 8 株中 1 株 (KYM-1) に異常を認めた以外に明らかな変異を認めなかった。*hSNF5 /INI1* 遺伝子の変異を認めた横紋筋肉腫の 1 株 (KYM-1) をヌードマウスに移植して得られた腫瘍塊の hematoxylin and eosin (HE) 染色で、KYM-1 では MRT に特徴的な好酸性細胞質内封入体と目立った核小体を持つ丸く大きな核を認めた。電子顕微鏡所見では、perinuclear filament whorls を認めなかった。染色体分析では、KYM-1 で 46, X, -X, +14, t(11; 22) (p11.2; q13), t(17; 22) (p13; q11.2) の 2 つの転座を認め、これは FISH 法でも確認された。NSE、S100、EMA、myoglobin、vimentin、および rhabdomyoactin による免疫組織染色では、vimentin が陽性に染色された以外は、明瞭な陽性染色所見を認めなかった。また、*MyoD1*、*myogenin*、*desmin* 遺伝子の発現を認めず、*PAX3-FKHR* キメラ転写物を検出しなかった。

### 4. 考案

*hSNF5 /INI1* 遺伝子の変異は MRT と AT/RT に高率に、かつ特異的にみられた。横紋筋肉腫で *hSNF5 /INI1* 遺伝子の欠失を認めた KYM-1 は、種々の検索結果から横紋筋肉腫ではなく MRT と診断するのが妥当と考える。今回マウスに移植した KYM-1 の電子顕微鏡所見では、核周囲に MRT に特徴的とされる渦巻き状構造、perinuclear filament whorls を認めなかった。細胞株樹立時の論文中には、電顕所見で核周囲の渦巻き状構造が記載されており、また、新鮮腫瘍からの系代培養中に渦巻き状構造が失われることが他の MRT の細胞株でも観察されており、今回渦巻き状構造を認めなかったことと、KYM-1 を MRT と診断することに矛盾は無いと考える。さらに、今回新たに、横紋筋肉腫と MRT との鑑別に、*MyoD1*、*myogenin*、*desmin* 遺伝子等の骨格筋分化制御遺伝子の発現検索が有用であることを発見した。1999 年に横紋筋肉腫で *hSNF5 /INI1* 遺伝子の欠失を認めたと報告された細胞株 A204 が、1991 年の別の論文で *MyoD1* と *myogenin* いずれの発現も認めなかったことが報告されており、今回の我々の KYM-1 の検査結果と一致し、この細胞株が MRT である可能性があると考えている。横紋筋肉腫で *hSNF5 /INI1* 遺伝子の変異を認めた場合は、*MyoD1* と *myogenin* の発現検索による診断の確認が必要である。

*hSNF5 /INI1* 蛋白は、SWI/SNF 多蛋白複合体の殆どに全てにその最小構成蛋白として含まれ、ATP と結合して種々の機能に関与する。SWI/SNF 多蛋白複合体は、細胞特異的に翻訳活性を司り、細胞の発生のプログラムに応じた多彩な分化に関与すると考えられる。SWI/SNF 多蛋白複合体の構成員として同定された BRM

や Brg-1 蛋白の変異により、筋肉への分化を司る転写因子 myogenin の発現が消失し、MyoD1 蛋白が合成されないことも実験的に証明され、我々の実験結果で *hSNF5 / INI1* 遺伝子の変異と *MyoD1* と *myogenin* の発現消失が MRT で同時に起こっていることは、同等の変化を引き起こしたことを示唆しており、興味深い。それ以外にも *h SNF5 / INI1* は c-Myc や ALL-1 との関連が報告され、徐々に他の癌抑制遺伝子との関連も解明されつつある。SWI/SNF 多蛋白複合体の構成員以外の機能として、*h SNF5 / INI1* 蛋白は、retinoblastoma 蛋白と結合し、retinoblastoma 蛋白のリン酸化を抑制し、細胞周期の進行を抑制的に調節したり、HIV、子宮頸部の発癌に関わる papilloma virus、さらに EB virus などで宿主側の integrase や virus 側の蛋白と共同し、viral DNA をホストの核内に取り込む作用を促進する働きも証明され、抗ウイルス薬の開発という観点でも注目されている。

## 5. まとめ

小児悪性固形腫瘍の細胞株と新鮮腫瘍で、*h SNF5 / INI1* 遺伝子の変異とその診断的意義を検討した。*h SNF5 / INI1* 遺伝子の変異は、MRT や AT/RT に高率にかつ特異的にみられ、MRT の診断に非常に有用であると考えられた。その一方、MRT 以外の腫瘍、横紋筋肉腫で *h SNF5 / INI1* 遺伝子の変異を認めた細胞株 KYM-1 は、ヌードマウスに移植して得られた腫瘍塊の病理検索を含めて MRT と修正診断した。その際、骨格筋分化制御遺伝子 *MyoD1* と *myogenin* の発現の有無が横紋筋肉腫と MRT の鑑別診断に有用であることを発見し、KYM-1 と同様な検索が必要な細胞株 A204 の存在も見出した。*h SNF5 / INI1* 遺伝子の変異は MRT に非常に特異的であり、MRT 以外の診断で *h SNF5 / INI1* 遺伝子の異常を認めた固形腫瘍は、診断の再検討が必要である。