

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 陳 玉 彦

本研究は腎臓癌、肺がん、白血病など多くの癌腫の発癌過程で重要な役割を果たしていると考えられるチロシンキナーゼである *MET* 遺伝子およびチロシンフォスファターゼである *PTPN11* 遺伝子が小児軟部腫瘍の中で最も頻度の高い横紋筋肉腫(rhabdomyosarcoma: RMS)の発症、進展における意義を明らかにするため、これらの遺伝子および関連遺伝子 *CDKN2A* (*p16*、*p14*)遺伝子、*TP53* 遺伝子、*RAS* 遺伝子が横紋筋肉腫における変異および発現の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. RMS における *MET*、*p16*、*p14* の発現および相対的 DNA copy number : real-time quantitative PCR (RQ-PCR) 解析により、*MET* の発現は RMS の細胞株 7 株および新鮮腫瘍 17 例ですべて検出され、*MET* の高発現 (> mean value) は 24 検体中 7 検体で認められたが、ゲノムの増幅はみられなかった。*p16* の低発現または発現消失は 24 検体中 11 検体で検出され、*p14* の低発現または発現消失は 24 検体中 10 検体で検出された。細胞株 3 株および新鮮腫瘍 2 例で *CDKN2A* の DNA copy number が半分以上に低下していた。*MET* の高発現を有する新鮮腫瘍 2 例で *p16* と *p14* の低発現または発現消失も同時に検出された。
2. RMS における *MET* の蛋白発現およびリン酸化 : Western blot 解析および免疫沈降を行った結果、RMS の細胞株 7 株では *MET* の蛋白発現は mRNA の発現と一致した。蛋白の高発現が認められた 4 株の ARMS のうち 3 株で自己リン酸化が検出された。

3. RMSにおける *MET*、*CDKN2A*、*TP53* の変異：PCR-single-strand conformation polymorphism analysis (PCR-SSCP) 法と直接塩基決定法を用いて、RMS の細胞株 7 株と新鮮腫瘍 32 例では *MET* の変異が検出されなかった。ARMS の細胞株 SJRH-18 では *p16* のコドン 80 に nonsense 変異が検出された。この変異は *p14* では Pro135Leu の missense 変異に相当する。細胞株 7 株中 5 株および新鮮腫瘍 17 例中 3 例では *TP53* の変異が検出された。
4. RMS における融合遺伝子の発現：RT-PCR により、ARMS の細胞株 4 株および新鮮腫瘍 3 例で *PAX3-FKHR*、ARMS の 1 例で *PAX7-FKHR* が検出された。*PAX3-FKHR* を有する細胞株 4 株のうち 3 株、新鮮腫瘍 3 例のうち 2 例で *MET* の高発現が検出された。
5. *MET*、*p16/p14* の発現量と臨床的因子の相関の解析：*MET* の発現量は病期、融合遺伝子および予後と相関していた ($P = 0.04$; $P = 0.04$; $P = 0.02$; Mann-Whitney *U* test)。胞巣型および年長児 (> 3y) の *MET* 発現量が高い傾向がみられたが、有意差は認められなかった。*p16* と *p14* の発現量は 3 歳以下の症例に有意に低かったが、病期、病理像、予後などとの相関はみられなかった。
6. RMS における *PTPN11* の変異：RMS において 37 検体中 1 例の胎児型 RMS で *PTPN11* の変異 (A72T) が検出された。
7. RMS における *RAS* の変異：*PTPN11* の変異を有していない胎児型の細胞株 1 株および胎児型の新鮮腫瘍 1 例で *NRAS* の missense 変異がみられ、*NRAS* を活性化させる変異であった。

以上、本論文は横紋筋肉腫においてチロシンキナーゼである *MET* 遺伝子、またはチロシンフォスファターゼである *PTPN11* 遺伝子が一部の RMS の発生に関与する可能性を示した。さらに、*MET* 遺伝子は RMS の進展にも関与することを明らかにした。本研究はこれらの遺伝子が横紋筋肉腫の発症、進展における役割を解明し、難治性 RMS の新たな治療法の開発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。