

審査の結果の要旨

氏名 大木 健太郎

がん細胞のエネルギー代謝において重要な役割を果たしている TCA cycle に関わる酵素の 1 つである *isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1)* や *IDH2* の変異が、近年種々の腫瘍で変異が報告され、腫瘍の発症に関わる可能性が示されている。本研究は、小児悪性腫瘍小児悪性腫瘍における *IDH1* および *IDH2* 変異の頻度や種類、予後との関連を明らかにするため、小児骨髄性腫瘍 195 検体、小児固形腫瘍 407 検体の計 602 検体を用いて *IDH1* および *IDH2* の全コーディングエクソンについて変異解析を行い、急性骨髄性白血病サンプルで *IDH* 変異との関連が示唆されている *NPM1* と *c-KIT* の変異解析、*FLT3-ITD* の検索を行い、新規に見いだされた変異により生じる変異 *IDH1/2* 蛋白の機能や腫瘍発生のメカニズムを明らかにするために、変異 *IDH1/2* 蛋白の酵素活性の測定と、エネルギー代謝に関わる TCA cycle や解糖系の酵素と 2-HG のメタボローム解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. *IDH1* および *IDH2* の変異解析の結果、AML の 1 例で既知のミスセンス変異である *IDH2* R140Q 変異が認められた。同症例で *NPM1* や *c-KIT* の変異、*FLT3-ITD* は *IDH2* 変異症例では認められなかった。小児固形腫瘍では、既知の変異は認められず、7 つの新規変異が得られた。*IDH1/2* 変異の頻度はこれまでの成人の腫瘍の報告に比べてまれであり、小児固形腫瘍においては変異の種類がこれまでの報告と異なっており、成人の AML や神経膠腫における造腫瘍性とは異なる機序で発症すると推測された。
2. 神経芽腫の 1 症例で、*IDH1* にコドン 143 のアミノ酸がストップコドンとなるフレームシフト変異が認められ、横紋筋肉腫の細胞株 1 株で、*IDH2* にコドン 160 のアミノ酸がストップコドンとなるフレームシフト変異が認められた。フレームシフト変異により生じる変異 *IDH1/2* 蛋白は、いずれも活性化部位が失われる短縮型 *IDH* 蛋白となり、機能喪失型変異であると推測された。
3. *IDH2* 変異が認められた AML 症例は、予後良好因子である t(8;21) を伴い、SNP アレイ解析によるアレルコピー数の解析で 7q、9q、16q、17q の欠失や 12q、17q、22q の増幅が認められ、既知の予後不良因子である *FLT3/ITD*、*NPM*、*c-KIT* 変異は認められなかったにも関わらず、予後不良な経過を辿った。*FLT3-ITD* や *c-KIT*、*NPM* 変異を認めない t(8;21) を有する小児 AML において、*IDH2* 変異が予後不良因子となっている可能性が考えられた。
4. *IDH1* のフレームシフト変異を認めた神経芽腫症例は、SNP アレイ解析の結果で既知の予後不良因子である *MYCN* の増幅や 1p、11q の LOH は認めなかったが、これまで報告のない 10p の LOH や 22q の gain など複数の染色体のコピー数の異常を認め、治療反応性が不良であった。フレームシフト変異は、児の末梢血でも認められ、腫瘍で初めての見いだされた生殖細胞変異であることが判明した。その後両親と姉 3 人において変異解析を行い、母から受け継がれた変異であることが示された。腫瘍性疾患をもつ家族歴はなかった。患児と父親、母親の尿中 2-HG 蛋白量のメタボローム解析を行ったところ、変異を有する患児と母親の尿中 2-HG 蛋白量は、変異を有していない父親と有意差は認められず、新規のフレームシフト変異は α -KG から 2-HG への機能獲得型変異はないことが示された。

5. 新規に見いだされた *IDH2* I142L ミスセンス変異について、*IDH2* 蛋白活性の測定を行ったところ、新規 *IDH2* I142L 変異蛋白は ICT から α -KG への反応については、既知の *IDH2* R140Q や R172K 変異蛋白に比べると活性は高いが、野生株に比べて *IDH2* の蛋白活性が有意に低下しており、機能喪失型変異であることが示された。次に α -KG から 2-HG への反応については、新規の *IDH2* I142L 変異蛋白は野生株に比べて *IDH2* 蛋白活性の亢進は認められず、酵素活性は有意に低下しており、機能獲得型変異ではないことが示された。

6. *IDH1* 野生株と R132H、I154V、S389C 変異体、*IDH2* 野生株と V8A、P23R、I142L、R140Q、R172K 変異について、メタボローム解析で 2HG 蛋白量を測定し、 α KG から 2HG への反応について、*IDH1/2* 新規変異蛋白の機能の亢進がみられるか検討したところ、既知の *IDH1* R132H 変異体と *IDH2* R140Q、*IDH2* R172K 変異体は野生株に比べて有意に 2HG 蛋白量が多かったが、新規 *IDH1/2* 変異体は野生株と有意差は認められず、新規変異は α -KG から 2-HG への反応の機能獲得がないことが示された。

7. *IDH1* 野生株と R132H、I154V、S389C 変異体、*IDH2* 野生株と V8A、P23R、I142L、R140Q、R172K 変異について、メタボローム解析を用いて、細胞のエネルギー代謝で重要な働きを示す TCA cycle や解糖系に関わる酵素を測定したところ、既知の *IDH2* R140Q と R172K 変異体は野生株に比べて TCA cycle の抑制と解糖系の亢進が認められたが、新規 *IDH1/2* 変異体はがん細胞の特徴である TCA cycle の抑制と解糖系の亢進は認められないことが示された。

以上、本論文は小児悪性腫瘍における *IDH1/2* 遺伝子の変異の頻度や種類を明らかにし、*IDH* 変異症例の詳細な検討や小児固形腫瘍で見いだされた新規変異の機能解析を行うことにより、新規に見いだされた変異 *IDH1/2* 蛋白のエネルギー代謝や腫瘍発生に関わる機能を明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった小児悪性腫瘍における *IDH1/2* 変異の頻度や種類、予後との関連に加えて、*IDH1/2* 変異による腫瘍細胞のエネルギー代謝の変化や腫瘍発生に関わるメカニズム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。