

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 湯澤明夏

### 学位論文題名

髄膜性腫瘍の分子遺伝学的マーカーと臨床病理学的因子との相関に関する研究  
(Studies of molecular and genetic markers with clinicopathological features  
of meningeal tumors)

【背景と目的】 髄膜腫は最も多い脳腫瘍の一つであり、その鑑別疾患として孤在性線維性腫瘍 (solitary fibrous tumor, SFT) および血管周皮腫 (hemangiopericytoma, HPC) があげられる。近年、次世代シーケンサーの普及により様々な腫瘍で責任遺伝子が同定され、NF2 異常のない髄膜腫で TRAF7、AKT1、KLF4、SMO の変異が報告され、また髄膜発生 SFT と HPC ではいずれも NAB2-STAT6 融合遺伝子が発見された。また、神経膠腫で分子遺伝学的分類が組織学的分類よりも予後と関連するなど、脳腫瘍の病理診断における分子遺伝学的分類の重要性が示唆されている。しかし、髄膜腫や SFT/HPC での分子遺伝学的マーカーと予後を含めた臨床病理学的因子との相関については十分な検討がなされていない。本研究では髄膜腫および髄膜発生 SFT/HPC の遺伝子解析を行い、分子遺伝学的マーカーと予後を含めた臨床病理学的因子との相関を明らかにすることを目的とした。髄膜腫ではさらに、分子標的治療の対象となる遺伝子変異、増幅/欠失の有無を調べることで、また髄膜腫不死化細胞株を樹立し、その遺伝子プロファイルを明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】 髄膜腫 103 例の凍結検体を PAXgene Tissue System で固定してゲノム DNA を抽出し、NF2、TRAF7、AKT1、KLF4、SMO、KIT、ERBB2、MET の遺伝子パネルを用いて次世代シーケンサーで遺伝子解析を行った。NF2 の欠失に関しては、同時に 35 症例の FFPE 検体で FISH を行い、次世代シーケンサーの結果と比較検討した。これらの結果をあわせ、臨床病理学的因子と遺伝子変化の相関を検討した。また、10 例の髄膜腫切除検体を用いて初代培養を行い、TERT 遺伝子導入により不死化培養細胞株の樹立を行った。得られた不死化培養細胞株を上記の遺伝子パネルを用いて遺伝子解析を行った。髄膜発生 SFT/HPC に関しては、19 例の FFPE 検体から mRNA を抽出し、RT-PCR 法で NAB2-STAT6 融合遺伝子を検索した。また、p53 の免疫組織化学を行い、融合遺伝子型と p53 をあわせて組織型との関連性を検討した。さらに、本検討の 19 例を含む全身の SFT 339 例のメタ解析を行い、SFT における NAB2-STAT6 融合遺伝子の検出頻度と腫瘍発生部位との関連性、髄膜発生 SFT/HPC 56 例については、NAB2-STAT6 融合遺伝子型と年齢、性別、腫瘍径、組織型、予後などとの相関について検討した。

【結果】 髄膜腫 103 例の遺伝子解析の結果、81 例(79%)において NF2 欠失/変異もしくは TRAF7、AKT1、KLF4、SMO の変異の少なくとも 1 つが認められた。KIT、ERBB2、MET に変異や遺伝子増幅/欠失は認められなかった。遺伝子変化に基づき髄膜腫を NF2 type、TRAKLS type、”not otherwise classified” (NOC) type の 3 つの genotype に分類した。NF2 type は NF2 の欠失もしくは変異の少なくとも一方を有する症例、TRAKLS type は TRAF7、AKT1、KLF4、SMO の 1 つ以上に変異がある症例、NOC type はいずれ

れも認めない症例とした。この genotype は腫瘍部位、腫瘍径、MRI 所見、組織型、Ki-67 標識率と有意に相関した。さらに多変量解析では genotype は Simpson grade、WHO grade、Ki-67 標識率とは独立した予後因子であった。遺伝子解析は検体固定から 7 日で結果が得られた。また、10 例中 2 例の髄膜腫切除検体から不死化培養細胞株が得られ、それぞれ遺伝子解析にて NF2 type と NOC type に相当する細胞株が得られたが、TRAKLS type の髄膜腫細胞株は樹立できなかった。髄膜発生 SFT/HPC に関しては、RT-PCR 法で 19 例中 14 例 (74%) に NAB2-STAT6 融合遺伝子が検出された。SFT 5 例中 3 例 (60%) で NAB2ex4-STAT6ex2 が認められた一方で、HPC および anaplastic HPC で NAB2ex4-STAT6ex2 を有した症例は 14 例中 1 例 (7%) のみであり、この症例は p53 陽性であった。偽乳頭状構造を示す HPC、anaplastic HPC の 4 例中 3 例は NAB2ex6-STAT6ex17 を有していた。Anaplastic HPC は全例 p53 陽性であった。メタ解析では、339 例中 285 例 (84%) で NAB2-STAT6 融合遺伝子が認められ、さらにはほぼ全長の STAT6 を有する Fusion (STAT6-full) と、STAT6 が短い Fusion (STAT6- $\Delta$ DBD) の 2 種類の融合遺伝子型に分類することができた。この融合遺伝子型は腫瘍発生部位、年齢、組織型、核分裂像と有意に相関していたが、予後との相関は認められなかった。

【考察】 髄膜腫の遺伝子解析では、臨床病理学的因子と強く相関する 3 つの genotype に分類することができた。特に TRAKLS type は全摘出が時に困難な頭蓋底に多いものの、NF2 type や NOC type より予後良好であり、検体の固定から 7 日間で genotype が判明する本システムは、正確な病理診断および適切な術後治療に有用であると考えられる。しかし、TRAKLS type に相当する髄膜腫細胞株は得られず、TRAKLS type における腫瘍形成のメカニズム解明や AKT 阻害剤、hedgehog 阻害剤の有効性の検討などには異なる手法による細胞株樹立が必要であると考えられた。KIT、ERBB2、MET に変異や増幅は認められず、これらを標的とした分子標的薬は髄膜腫の治療選択肢となる可能性は低いと考えられた。髄膜発生 SFT/HPC では腫瘍発生部位や年齢と相関する 2 つの NAB2-STAT6 融合遺伝子型に分類することができ、悪性化に p53 の関与が疑われた。また、NAB2ex6-STAT6ex17 と偽乳頭状構造、Fusion (STAT6-full) と SFT など、融合遺伝子型と組織型との相関も見られたが、そのメカニズムは不明であり、今後の検討課題である。

【結論】 髄膜腫、髄膜発生 SFT/HPC はそれぞれ特徴的な分子遺伝学的マーカーを有し、これらの検索は病理診断と並行して行うことができ、また病理診断の補助となると考えられる。これらの分子遺伝学的マーカーに基づいた適切な疾患の再分類、及びそれに基づいた病理診断を行うことで、適切な治療、特に分子標的薬を含めた個別化医療が期待される。