

論文内容要旨

論文題目

骨肉腫における変異型イソクエン酸デヒドロゲナーゼの発現解析

Analyses on isocitrate dehydrogenase 2 mutation in osteosarcoma

責任講座： 整形外科 講座
氏名： 劉興

【内容要旨】 (1,200字以内)

【背景と目的】イソクエン酸脱水素酵素 (isocitrate dehydrogenase: IDH) は、ヒトでは IDH1、IDH2、IDH3 の3つのサブタイプが知られている。酵素活性の中心部位である IDH1 132 番目のアルギニン (R132)、IDH2 172 番目のアルギニン (R172) に変異を生じると、イソクエン酸を α -ケトグルタル酸に変換する本来の活性を失う。変異型 IDH1/2 は、 α -ケトグルタル酸を癌代謝産物である 2-ヒドロキシグルタル酸に変換する新しい酵素活性を獲得することが知られている。変異型 IDH1/2 は、神経膠腫、急性骨髄性白血病、軟骨肉腫、さらに Ollier 病、Maffucci 症候群の多発性内軟骨腫症でも報告されている。これまで骨肉腫で変異型 IDH1/2 が検出されたという報告はない。骨肉腫における変異型 IDH1/2 の発現を検討した。

【材料と方法】当科で治療した骨肉腫生検標本 12 症例について、DNA ダイレクトシーケンス法を用い、変異型 *IDH1/2* を検索した。さらに、PCR 産物のサブクローニングを行い、検出された変異型 IDH1/2 について複数の変異を認識する MsMab-1 抗体によるウェスタンブロットを行った。また生検標本とアジア人由来の骨肉腫組織マイクロアレイを用いて、MsMab-1 抗体による免疫組織化学的検討を行った。

【結果】DNA ダイレクトシーケンス法で、生検標本 12 症例中 3 症例 (25%) に *IDH2*-R172S 変異が認められた。一方、*IDH1* の変異は検出されなかった。MsMab-1 抗体は *IDH2*-R172S に対しても交差反応性を示すことがウェスタンブロット法により確認された。組織マイクロアレイを用いた免疫組織染色では 32 例中 9 例 (28.1%) が陽性であった。

【考察】本研究において、ダイレクト DNA シーケンス法により、初めて骨肉腫で *IDH2*-R172S 変異が確認された。複数の変異型 IDH1/2 を認識する MsMab-1 抗体による免疫組織染色を用いることで、骨肉腫における変異型 IDH1/2 の発現が認められた。今回は症例が少数であること、またアジアの症例に限られていることから、今後さらに症例を蓄積し、骨肉腫における変異型 IDH1/2 の発現を検討していく必要がある。

平成 29年 1月 12日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：劉 興

論文題目：骨肉腫における変異型イソクエン酸デヒドロゲナーゼの発現解析

Analyses on isocitrate dehydrogenase 2 mutation in osteosarcoma.

審査委員：主審査委員

三井 哲夫 (印)

副審査委員

高木 理彰 (印)

副審査委員

後藤 薫 (印)

審査終了日：平成 29年 1月 10日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

当該論文の審査は、平成 29年 1月 10日に発表会および審査を行った。三人の審査委員出席の上、まず劉氏に発表いただき、その後、質疑応答、議論計 80分程度行ない、その後審査委員で協議を行なった。

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ(Isocitrate dehydrogenase IDH)は、イソクエン酸と α -ケトグルタル酸とを相互に変換する酸化還元酵素で、ヒトでは IDH1 (細胞質型・NADP+依存性)、IDH2 (ミトコンドリア型・NADP+依存性)、IDH3 (ミトコンドリア型・NAD+依存性) の3つのサブタイプが知られる。特定の遺伝子変異を持つ IDH1、IDH2 は、 α -ケトグルタル酸を 2-ヒドロキシグルタル酸(2-HG)に変換することが知られ、この 2-HG ががん化の過程に関与することが考えられている。これまで、神経膠腫、急性骨髄性白血病、軟骨肉腫等のがんで IDH1 と IDH2 の変異の報告がなされている。劉氏は、これまで IDH 変異の報告の無い骨肉腫の臨床腫瘍検体を用いて、特にがん化において重要な役割を果たすと考えられる IDH1 のコドン R132、IDH2 R172 を中心に直接塩基配列決定法で遺伝子解析を行い、骨肉腫症例 25%に R172S の変異が検出されることを見出した。加えて、これまでに樹立されている IDH の様々な変異を認識するモノクローナル抗体を用いて、この R172S 変異タンパクと結合する抗体をウエスタンブロット法でスクリーニングし有用と考えられた MsMab-1 抗体を用いて、アジア人骨肉腫腫瘍組織アレイで免疫染色を行い 28.1%が、免疫組織染色が陽性であることを見出した。これは、IDH2 R172S 変異を免疫組織染色だけで検出する可能性を示したものである。神経膠腫においては、これまでに IDH に変異のある患者は予後が良いことが知られており、骨肉腫における患者の予後層別化の可能性の端緒となる研究成果である。

本研究は、臨床腫瘍検体を用いて、IDH に着目、これまでに他がん種でがん化や予後に重要であると報告されている特定の遺伝子変異を骨肉腫で初めて同定し、さらに免疫組織染色だけでそのスクリーニングを行う可能性について道を開いた、細胞がん化過程の更なる解析と骨肉腫治療リスク層別化に道を開く重要な研究である。一方で、本論文については、日本語記述において、単語の使い方、実験手法の記述、図表のまとめ方等に多少問題があることが指摘され、これらの修正をした上で、本研究は学位(医科学博士)の授与に値すると本審査委員会は判断した。

(1, 200字以内)