

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御科学領域血液内科学分野 氏名 立田 卓登
(論文題目) Expression, mutation, and methylation of CRBN-pathway genes at pre- and post-lenalidomide treatment in multiple myeloma (多発性骨髄腫におけるレナリドミド療法前後の CRBN 関連遺伝子発現、変異、メチル化の解析)	
(内容の要旨) <p>【背景】レナリドミド (Len) は免疫調節薬 (IMiDs) の一種であり、多発性骨髄腫 (MM) の治療において中心的な役割を果たしている。IMiDs の治療標的は CRL4<sup>CRBN</sup>E3 ユビキチンリガーゼ複合体の基質のアダプターであるセレブロン (CRBN) と報告されている。Len が CRBN に結合すると、複合体の基質特異性を変化させ、MM の病態形成に関与する転写因子 IKZF1、IKZF3、核輸送タンパク質 KPNA2 などがユビキチン化され分解される。既報では CRBN や IKZF1/3 のタンパク量や mRNA 発現量が Len の治療効果に影響することが報告され、予後予測マーカーとしての有用性が示唆されているが、手法や結果が異なり、これらの CRBN 関連遺伝子の発現と多発性骨髄腫の予後については未だ明らかになっていない。今回我々は CRBN 関連遺伝子の mRNA 発現、変異、メチル化とレナリドミド、デキサメサゾン併用 (Ld) 療法の治療効果に対する関係性を検討した。</p> <p>【方法】2010 年 7 月から 2017 年 5 月に名古屋市立大学病院にて Ld 療法を導入された再発難治性多発性骨髄腫患者 83 名を対象とした。Ld 療法前の骨髄検体は 48 名から得られ、そのうち Ld 療法後の骨髄検体も得られたのは 25 名であった。骨髄検体より単核球細胞を分離、CD138 陽性細胞を磁性ビーズにて選択し DNA、RNA を抽出した。RNA より cDNA を作製、RT-PCR 法を用い、CRBN、IKZF1、IKZF3、KPNA2 の mRNA 定量を行った。また Ld 療法前後の検体が得られた 22 例の DNA を対象に、CRBN、IKZF1、IKZF3、CUL4A、TP53 の 5 遺伝子に対する次世代シーケンサーによる Targeted amplicon sequencing を行った。更に Ld 療法後の 22 検体で CRBN プロモーター領域のメチル化検索のため、methylation-specific PCR を行った。【結果】CRBN 関連遺伝子の mRNA 発現レベルは最良効果、無増悪生存期間 (PFS)、全生存期間 (OS) と有意な関連は認めなかったが、IKZF1 / CRBN 比は Ld 療法に対する good responder (CR + VGPR + PR, n = 32) よりも poor responder (SD + PD, n = 15) で有意に低かった (P = 0.01)。逆に KPNA2 / CRBN 比が高い患者は、低い患者と比較して PFS および OS が有意に短かった (P = 0.01)。また IKZF1 と KPNA2 には負の相関が認められた。変異解析では Ld 療法後検体で TP53 と IKZF3 の体細胞変異をそれぞれ 2 検体と 1 検体で認めた。CRBN プロモーターのメチル化は検出されなかった。【考察】低 IKZF1 / CRBN 比と高 KPNA2 / CRBN 比が Ld 療法の予後不良を予測することが示され、IKZF1 と KPNA2 の間には負の相関が示唆された。IKZF1 と KPNA2 の遺伝子発現の関係について既報告はないが、それぞれが MM の病態形成において異なる経路に位置している可能性がある」と推測され、IKZF1 経路に依存する MM では Len の奏効が得られるが、KPNA2 経路に依存する MM では IKZF1 経路への依存度が低く、Len の治療効果が十分に得られない可能性が考えられる。CRBN 関連遺伝子の変異や CRBN プロモーターのメチル化は少なく、CRBN 発現量に対する関連は認められなかった。これらの結果は、MM の Len 感受性を考える上で有益な情報であるが、少数例での検討であり、今後、均一な患者集団における多数例での検討が求められる。</p>	