

岩手医科大学審査学位論文の要旨 (博士)

Mutations of the *KEAP1* and *NRF2* genes in human melanomas

(ヒト悪性黒色腫における *KEAP1* 及び *NRF2* 遺伝子の変異)

(影下雄一, 赤坂俊英, 前沢千早)

(Oncology Letters 13 巻, 5 号 平成 28 年 5 月掲載)

I. 研究目的

皮膚悪性黒色腫は、予後不良の皮膚悪性腫瘍であり、その発生には複数の要因が関与している。なかでも紫外線及び炎症による慢性的なストレス暴露が知られおり、reactive oxygen species (ROS) 産生に伴う酸化ストレスは、腫瘍発生の大きな要因とされている。*Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1)-Nuclear factor E2-related factor 2 (NRF2)* 経路は、ROS や親電子性物質に対する防御機構の主要な経路である。

本研究では、ヒト悪性黒色腫において *KEAP1*, *NRF2* 遺伝子の変異を解析し、NRF2 蛋白の活性化によって誘導される NRF2 蛋白の核内集積像、および臨床病理学的事項との関連について検討した。

II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学皮膚科学講座で経験した 28 症例(1998-2012 年)の悪性黒色腫患者について、NRF2 蛋白を Ventana 社(Tuscon, AZ, USA)製の自動免疫染色装置を使用し、labeled streptavidin-biotin 法にて染色した。NRF2 蛋白活性化は、核集積像の有無で判定した。QIAamp DNA FFPE Tissue Kit(Qiagen Hilden, Germany)を用い、パラフィン切片(10 μ m 厚, 1~7 枚)から腫瘍部の DNA を抽出した。*KEAP1*(exon 2-6), *NRF2* (exon 1-5), ならびに NRF2 蛋白の活性化を誘導する *BRAF* (exon 15) 遺伝子の変異を PCR-direct sequence にて解析した。NRF2 蛋白の核内集積と *KEAP1*, *NRF2*, *BRAF* の変異ならびに臨床病理学的事項の相関解析には、Fisher's exact test を用い、有意水準を $p < 0.05$ とした。

III. 研究結果

1. 遺伝子変異の頻度は *KEAP1*, *NRF2*, *BRAF* で、各々 10%(3/28), 4%(1/28), 4%(1/28)であった。
2. *KEAP1* 遺伝子の変異は、*NRF2* 活性化を促進する 1518delC 欠失変異と、その近位に認められた g.1509G>T (M503I) のミスセンス変異であった。
3. *NRF2* 遺伝子の変異は、g.1770G>A (V177I) のミスセンス変異であり、*KEAP1* 蛋白質との結合ドメイン外に認められた。
4. NRF2 蛋白の核内集積像は 36%(10/28)に陽性で、*KEAP1*, *NRF2*, *BRAF* 変異との関連は認められなかった。
5. NRF2 蛋白の核内集積と臨床病理学的事項との間に有意な相関はなかった。

IV. 考 按

悪性黒色腫における NRF2 蛋白の核内集積と *KEAP1/NRF2* 変異の頻度の違いは、*NRF2* 活性化の原因が変異によるものだけではないことを示すものであった。その原因としては、*KEAP1* 遺伝子の epigenetic な異常あるいは *BRAF/NRAS* 遺伝子以外の他のがん遺伝子の活性化が原因になると考えられた。

V. 結 語

NRF2 蛋白の核内集積像は比較的高頻度 21%(6/28)であったにも関わらず、*KEAP1*, *NRF2* 遺伝子変異は低頻度であった。このことは悪性黒色腫の抗酸化ストレス作用における *NRF2* の活性化が、同遺伝子及び *KEAP1* 遺伝子変異以外の分子によって誘導される可能性を示すものであった。