

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10343

研究課題名(和文) 神経膠腫における分子生物学的分類と個別化治療の確立

研究課題名(英文) Towards personalized treatment of diffuse gliomas based on molecular characteristics

研究代表者

佐々木 光 (SASAKI, HIKARU)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：70245512

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：多くの神経膠腫は未だに根治困難であり、さらなる分子分類と治療の最適化が必要である。我々は、術前化学療法(neoadjuvant chemotherapy)戦略の神経膠腫における有用性を検討し、1p/19q codeletion や MGMT メチル化 をもつ神経膠腫に対しては、化学療法による腫瘍縮小後のsecond-look resectionにより予後が改善される可能性を示し、また術前画像所見の組み合わせから、分子マーカーを予測するスコアシステムを開発した。さらに、ロゼット形成性グリア神経細胞腫瘍の遺伝学的背景及び1p/19q codeletion 神経膠腫の予後や膠芽腫長期生存に関わる因子を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The majority of diffuse gliomas is not curable yet, and the development of the personalized treatments according to molecular characteristics is indispensable. The main aims of this study were to establish the personalized therapies and to explore the utility of the neoadjuvant chemotherapy for chemo-sensitive gliomas. The prospective study for the diffuse gliomas with 1p/19q codeletion or MGMT promoter methylation suggested that upfront chemotherapy and subsequent resection for initial incomplete resections might be superior to chemotherapy and observation strategy. To preoperatively design the neoadjuvant strategy, we established the scoring systems to predict 1p/19q codeletion and MGMT methylation based on imaging features. Moreover, we have elucidated the molecular background of the rosette-forming glioneuronal tumor, molecular-pathological prognostic factors in 1p/19q-codeleted gliomas, and the factors favorably associated with long-term survival in glioblastoma patients.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：glioma 1p/19q codeletion MGMT neoadjuvant chemotherapy personalized treatment RGNT molecular classification

1. 研究開始当初の背景

神経膠腫において分子生物学的分類の重要性が認識され、3つの重要な分子生物学的予後因子が報告された:染色体1番短腕、19番長腕の同時欠失(1p/19q codeletion)の有無、DNA修復酵素MGMT(06-methylguanine-DNA methyltransferase)遺伝子のプロモーター領域メチル化(MGMTメチル化)の有無、イソクエン酸脱水素酵素IDH1/2(isocitrate dehydrogenase 1/2)遺伝子の変異の有無である。しかし、これらの解析が日常的に行われている施設は少なく、遺伝子情報を活用し、生物学的特徴に従った個別化治療を確立、普及させることが急務であった。

術前化学療法(neoadjuvant chemotherapy: NAC)という治療戦略(主治療の前に腫瘍をdown-stagingし、生命・機能予後の改善を図る)は、多くの他臓器癌において標準治療となっていた。しかし、神経膠腫に対しては、NAC治療戦略は全く行われておらず、適応も不明であった。

研究者代表施設では、2006年以降、全神経膠腫症例に対して、comparative genomic hybridization (CGH)法による全染色体解析、MGMTメチル化解析、IDH変異解析が日常的に行われており、その結果に基づいて治療方針が決定されている。特に、1p/19q codeI やMGMTメチル化により化学療法反応性が示唆されたWHO Grade 2-3の神経膠腫に対しては、初回術後、化学療法先行で治療を行い、初回手術が不完全(部分摘出、生検)であった症例に対しては腫瘍縮小時点で根治のための再摘出(second-look resection)を行っている。本研究開始時点で、26例の化学療法反応性神経膠腫がこの方針で治療されていた。

また、下記の<研究の方法>(4)に関連して、研究分担者施設の神経膠腫を対象とした解析で、術前CT, MRI画像における腫瘍の石灰化、皮質局在の組み合わせが1p/19q codeI

を高い特異度で予測することを報告していた(Nishiyama et al. Neurosurg Rev 2014)。

2. 研究の目的

分子生物学的特徴に基づく、治療効果や生命予後と関連し客観性のある神経膠腫分類を構築すること、さらに、その分類に従って個別化された治療方針を確立すること、を目的とする。特に、神経膠腫に対する術前化学療法の有用性と限界を確認し、その適応を確立することを主目的とする。

3. 研究の方法

(1) 神経膠腫における分子生物学的分類と個別化治療の確立: 研究代表者施設、分担者施設の神経膠腫症例において、特に腫瘍発生メカニズム、治療感受性、生命予後との関連の視点から、腫瘍ゲノムの遺伝子解析を行う。

(2) 化学療法反応性神経膠腫に対するNACの有用性検証: 初回術後、1p/19q codeI などにより化学療法反応性が予測される症例に対しては、術後に化学療法先行、不完全摘出例では腫瘍縮小させた後のsecond-look resectionの方針(背景の項参照)を継続する。

(3) 画像所見に基づく術前分子診断による計画的NACの有用性検証: 画像所見から1p/19q codeIの存在が予測される症例に対しては、術前分子診断に基づく計画的なNACの有用性を検証する。

(4) 1p/19q codeI やIDH変異を予測する画像所見の再確認: 我々は、術前画像における腫瘍の石灰化、皮質局在の組み合わせが1p/19q codeIを高い特異度で予測することを報告した(背景の項参照)が、感度が低かった。研究代表者施設の症例を用いて、より多くの画像所見を含めて、放射線診断医を含む数人の評価で検討し、同等の特異度とさらに高い感度で、1p/19q codeIなどを予測する画像所見の組み合わせを確認する。

(5) 化学療法による腫瘍縮小後の摘出標本における組織学的検索:化学療法による腫瘍縮小後の摘出標本において、腫瘍浸潤範囲や癌幹細胞の分布を検索し、組織学的に同アブローチの有用性を検証する。

(6) 化学療法による腫瘍縮小後の摘出標本における遺伝子変異の検討:化学療法による腫瘍縮小後に摘出された症例において、再発でなく純粋に化学療法の影響による腫瘍ゲノムの変化を検討する。

(7) 1p/19q code1 をもつ神経膠腫における予後因子の検討 : 1p/19q code1 をもつ神経膠腫症例において、臨床病理学的、分子生物学的因子と生命予後との関連を検討する。

(8) 低悪性度神経膠腫における予後因子の検討:当施設で腫瘍摘出術が行われた約100例のWHO Grade 2-3神経膠腫症例において、臨床病理学的、分子生物学的因子と生命予後との関連を検討する。

4 . 研究成果

(1) 神経膠腫における分子生物学的分類と個別化治療の確立:膠芽腫長期生存には、若年、術前KPS、腫瘍が脳室壁から離れていること、19q lossが関連していることを報告した (Nakagawa et al. World Neurosurg 2017) 。ロゼット形成性グリア神経細胞腫瘍が1つのクローンから発生し異なる分化を示す2成分からなる腫瘍であり、また毛様細胞性星細胞腫とは異なる遺伝学的背景を持つことを示した (Kitamura et al. Brain Pathol 2018) 。また、研究分担者機関との共同研究で、Grade 2, 3神経膠腫がIDH 変異とp53変異に基づく、予後と相関する3群に分類されることなどを報告した (Nakae et al. PLoS ONE 2015; Hattori et al. Cancer Sci 2016, Nalae et al. Oncotarget 2017) 。また、形態学的に astrocytomaの特徴を持ちながら 1p/19q code1をもつ腫瘍は、1p/19q code1をもつ oligodendrogliomaと同様の生命予後を期待

できることを報告した (Hayashi et al. Oncotarget 2015) 。

(2) 化学療法反応性神経膠腫に対する NAC の有用性検証:初回手術標本において、1p/19q code1 や MGMT メチル化 により化学療法反応性が示唆されたWHO Grade 2-3 の神経膠腫に対して、術後に化学療法先行で治療を行い、初回手術が不完全であった症例に対しては腫瘍縮小時点で根治のための再摘出を行う方針を継続し、現時点で35症例が同方針で治療され、15症例で腫瘍縮小後のsecond-look resectionが行われた。当初の26症例をまとめ、国際誌で報告し、化学療法反応性神経膠腫に対しては、<術後化学療法+経過観察>よりも、<術後化学療法+縮小後のsecond-look resection> の方針の方が予後を改善できる可能性を示した (Sasaki et al. J Neurooncol 2015) 。

(3) 画像所見に基づく術前分子診断による計画的 NAC の有用性検証:下記(4)で論文報告したスコアシステムに基づく、proof of concept の臨床試験の倫理申請を準備中。

(4) 1p/19q code1 や IDH 変異を予測する画像所見の再確認:術前 CT, MRI 所見の組み合わせから、1p/19q code1 及び MGMT メチル化を予測するスコアシステムを開発し、国際誌で報告した (Kanazawa et al. Neurosurg Rev 2018) 。

(5) 化学療法による腫瘍縮小後の second-look resection 摘出標本における組織学的検索:腫瘍縮小後に second-look resection が行われた 15 症例の、初回標本と化学療法後標本を組織学的に検索し、特に癌幹細胞の分布などにおいて重要な知見を得た。論文準備中である。

(6) 化学療法による腫瘍縮小後の摘出標本における遺伝子変異の検討:解析中。

(7) 1p/19q code1 をもつ神経膠腫における予後因子の検討:1p/19q code1 をもつ神経膠腫においては、年齢や手術摘出率などは予後

と相関せず、染色体19p gainと腫瘍の組織学的Gradeが予後因子であることを示唆した (Hayashi et al. J Neurooncol 2017)。
(8) 低悪性度神経膠腫における予後因子の検討：当施設で摘出術が行われたWHO Grade 2-3神経膠腫において、形態学的な oligodendrogliomaの特徴の臨床的意義について検討、論文準備中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計28件)

Kanazawa T, Fujiwara H, Takahashi H, Nishiyama Y, Hirose Y, Tanaka S, Yoshida K, Sasaki H. Imaging scoring systems for preoperative molecular diagnoses of lower grade gliomas. **Neurosurg Rev**、査読有、2018 Apr 26 (Epub ahead of print)

DOI: 10.1007/s10143-018-0981-x.

Kitamura Y, Komori T, Shibuya M, Ohara K, Saito Y, Hayashi S, Sasaki A, Nakagawa E, Tomio R, Kakita A, Nakatsukasa M, Yoshida K, Sasaki H. Comprehensive genetic

characterization of rosette-forming glioneuronal tumors: independent component analysis by tissue microdissection. **Brain Pathol**、査読有、28: 87-93, 2018

DOI:10.1111/bpa.12468.

Sasaki H, Yoshida K. Treatment recommendations for adult patients with diffuse gliomas of grades and according to the new WHO classification in 2016. **Neurol Med Chir (Tokyo)**、査読有、57:658-666, 2017

DOI:10.2176/nmc.ra.2017-0071.

Yamamoto Y, Tamura R, Tanaka T, Ohara K, Tokuda Y, Miyake K, Takei J, Akasaki Y, Yoshida K, Murayama Y, Sasaki H. "Paradoxical" findings of tumor vascularity and oxygenation in recurrent glioblastomas refractory to bevacizumab. **Oncotarget**、査読有、8: 103890-103899, 2017

DOI:10.18632/oncotarget.21978.

Nakagawa Y, Sasaki H, Ohara K, Ezaki T, Toda M, Ohira T, Kawase T, Yoshida K. Clinical and molecular prognostic factors for long-term survival of the patients with glioblastomas in a single institutional consecutive cohort. **World Neurosurg**、査読有、106:165-173, 2017

DOI: 10.1016/j.wneu.2017.06.126.

Nakae S, Kato T, Murayama K, Sasaki H, Abe M, Kumon M, Kumai T, Yamashiro K, Inamasu J, Hasegawa M, Kurahashi H, Hirose Y. Remote intracranial recurrence of IDH mutant gliomas is associated with TP53 mutations and an 8q gain. **Oncotarget**、査読有、8:84729-42, 2017

DOI:10.18632/oncotarget.20951.

Kitamura Y, Sasaki H, Yoshida K. Genetic aberrations and molecular biology of skull base chordoma and chondrosarcoma. **Brain Tumor Pathol**、査読有、34:78-90, 2017.

DOI: 10.1007/s10014-017-0283-y.

Tokuda Y, Tamura R, Ohara K, Yoshida K, Sasaki H. A case of glioblastoma resected immediately after administering bevacizumab: consideration on histopathological findings and safety of surgery

Brain Tumor Pathol、査読有、34:98-102, 2017.

doi: 10.1007/s10014-017-0285-9

Hayashi S, Kitamura Y, Hirose Y, Yoshida K, Sasaki H. Molecular-genetic and clinicopathological prognostic factors in patients with gliomas showing total 1p19q loss: Gain of chromosome 19p and histological grade III negatively correlate with patient's prognosis. **J Neurooncol**、査読有、132: 119-126, 2017

DOI: 10.1007/s11060-016-2344-1.

Nakae S, Murayama K, Sasaki H, Kumon M, Nishiyama Y, Ohba S, Adachi K, Nagahisa S, Hayashi T, Inamasu J, Abe M, Hasegawa M, Hirose Y. Prediction of genetic subgroups in adult supratentorial gliomas by pre- and intraoperative parameters. **J Neurooncol**、査読有、131:403-412, 2017
DOI: 10.1007/s11060-016-2313-8.

Hattori N, Hirose Y, Sasaki H, Nakae S, Hayashi S, Ohba S, Adachi K, Hayashi T, Nishiyama Y, Hasegawa M, Abe M. WHO grade II-III astrocytomas consist of genetically distinct tumor lineages. **Cancer Sci**、査読有、107:1159-64, 2016
DOI: 10.1111/cas.12969

Tamura R, Tanaka T, Miyake K, Tabei Y, Ohara K, Sampetean O, Kono M, Mizutani K, Yamamoto Y, Murayama Y, Tamiya T, Yoshida K, Sasaki H. Histopathological investigation of glioblastomas resected under bevacizumab treatment. **Oncotarget**、査読有、7:52423-52435, 2016
DOI: 10.18632/oncotarget.9387

佐々木光、吉田一成. 神経膠腫の分子診断と個別化治療. **No Shinkei Geka (脳**

神経外科) 査読有、44:185-201, 2016
DOI:10.11477/mf.1436203256.

Nakae S, Sasaki H, Hayashi S, Hattori N, Kumon M, Nishiyama Y, Adachi K, Nagahisa S, Hayashi T, Inamasu J, Abe M, Hasegawa M, Hirose Y. PCR-based simple subgrouping is validated for classification of gliomas and defines negative prognostic copy number aberrations in IDH mutant gliomas.

PLoS ONE、査読有、10:e0142750, 2015
DOI:10.1371/journal.pone.0142750.

Sasaki H, Hirose Y, Yazaki T, Kitamura Y, Katayama M, Kimura T, Fujiwara H, Toda M, Ohira T, Yoshida K. Upfront chemotherapy and subsequent resection for molecularly defined gliomas. **J Neurooncol**、査読有、124:127-135, 2015
DOI: 10.1007/s11060-015-1817-y.

Hayashi S, Sasaki H, Kimura T, Abe T, Nakamura T, Kitamura Y, Miwa T, Kameyama K, Hirose Y, Yoshida K. Molecular-genetic and clinical characteristics of gliomas with astrocytic appearance and total 1p19q loss in a single institutional consecutive cohort.

Oncotarget、査読有、6:15871-81, 2015
DOI:10.18632/oncotarget.3869.

[学会発表](計 57 件)

金澤徳典、尾原健太郎、吉田一成、佐々木光、アルキル化剤による腫瘍縮小後に摘出された神経膠腫標本における病理組織学的検討、第35回日本脳腫瘍学会学術集会、2017

Eriel SP, Shibuya M, Ohara K, Kanazawa T, Kamamoto D, Nakagawa Y, Yoshida K, Sasaki H. Grade II-III lower grade glioma histopathological

reassessment and the clinical outcome of the molecular prognostic factors analysis. 22nd Annual Meeting of The Society for Neuro-oncology, 2017
Sasaki H. Management of oligodendroglial tumors. (Symposium), The 14th Meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology (ASNO), 2017
佐々木光、金澤徳典、西山悠也、中江俊介、廣瀬雄一、吉田一成、 術前分子診断に基づく、神経膠腫の resection strategy (シンポジウム)、第 22 回日本脳腫瘍の外科学会、2017
Sasaki H. Molecular-guided neoadjuvant chemotherapy for gliomas. The 21st International Brain Tumor Research and Therapy Conference (IBTRTC)、2016
佐々木光、 神経膠腫の分子診断と個別化治療 (特別講演)、Neuro Oncology Central 2016、2016
佐々木光、 Molecular classification and personalized treatment of gliomas (神経膠腫の分子生物学的分類と個別化治療) (特別講演)、第 20 回新潟脳腫瘍研究会、2015

〔図書〕(計 3 件)

佐々木光、澁谷 誠 : Myxopapillary ependymoma. In: 脳腫瘍臨床病理カラーアトラス 第 4 版. 脳腫瘍病理学会編 (編集委員 若林俊彦、渋井壮一郎、廣瀬隆則、小森隆司), 医学書院, 2017, pp 56
佐々木光、尾原健太郎 : 上衣系腫瘍. In: 脳神経外科学 改訂12版 II, 11章 脳腫瘍, 4 脳腫瘍各論 太田富男総編 川原信隆、野崎和彦、吉峰俊樹、若林俊彦編. 金芳堂, 京都, 2015, pp 1545-61

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.neurosurgery.med.keio.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 光(SASAKI, Hikaru)
慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師
研究者番号 : 70245512

(2) 研究分担者

廣瀬 雄一(HIROSE, Yuichi)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号 : 60218849

(3) 連携研究者

吉田 一成(YOSHIDA, Kazunari)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号 : 70166940

佐谷 秀行(SAYA, Hideyuki)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号 : 80264282

尾原 健太郎(OHARA, Kentaro)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号 : 40571724

(4) 研究協力者

北村 洋平(KITAMURA, Yohei) 済生会宇都宮病院 脳神経外科、現マサチューセッツ総合病院研究員

林 佐衣子(HAYASHI, Saeko) 慶應義塾大学医学部大学院、現永寿総合病院 脳神経外科
中川 祐(NAKAGAWA, Yu) 慶應義塾大学医学部大学院、現済生会東部病院 脳神経外科
釜本 大(KAMAMOTO, Dai) 慶應義塾大学医学部大学院

金澤 徳典(KANAZAWA, Tokunori) 慶應義塾大学医学部大学院

エリル サンディカ パレーラ(PAREIRA, Eriel Sandika) 慶應義塾大学医学部大学院
津崎 尚子(TSUZAKI, Naoko) 実験助手