

令和元年5月28日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20006

研究課題名(和文) 神経膠腫の不均一性に対する画像・病理・遺伝子の統合的解析

研究課題名(英文) Comparative analysis of image, histology and genetic status in adult gliomas

研究代表者

有田 英之(Arita, Hideyuki)

大阪大学・医学系研究科・招聘教員

研究者番号：60570570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では成人神経膠腫を対象に、遺伝子異常の解析および、MRI画像の様々な特性を特徴量として解析数値化、病理診断と合わせて、これらと比較・解析した。特にWHO grade II-III神経膠腫において、IDH1/2変異やTERTプロモーター変異といった神経膠腫の診断や臨床経過に強く相関する遺伝子変異の有無と、腫瘍の発生部位を含む画像における特徴量には一定の相関があることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、神経膠腫における遺伝子変異と放射線画像所見の関係を検討することで、定量的評価により客観性を持って両者に相関があることが明らかになった。本結果より、放射線画像を詳細に解析することで、ある程度の正確度をもって遺伝子型を予測することができる可能性が示唆された。これは、手術などを用いないで非侵襲的に腫瘍の診断を予測する技術につながる可能性があり、本疾患の診療や治療法の開発に重要な知見と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the relationships among genetic aberrations, image characteristics and histology using Japanese cohort of adult diffuse gliomas. In lower grade glioma (WHO grade II and III gliomas), IDH1/2 and TERT promoter mutational statuses were significantly associated with several radiomic parameters including lesion location information.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：神経膠腫 遺伝子変異 放射線画像

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経膠腫は脳実質内発生腫瘍の中で最も多い悪性腫瘍である。手術や放射線化学療法による修学的治療が行われるが、根治が難しいとされている。個体(患者)毎だけでなく、腫瘍内でも病理組織像・画像所見・分子生物学的特性が異なるという「不均一性」が、本疾患の病態の理解およびそれに基づいた治療開発を難しくしている。この不均一性は、腫瘍の発生過程において、各腫瘍細胞のサブクローンが共通した遺伝子変異を持ちながらも、新たなドライバーとなる遺伝子変異を獲得しながら増殖していく「クローン進化」により生み出される。クローン進化により、腫瘍内の部位毎の空間的な不均一性だけでなく、腫瘍増殖過程の中での時間的な不均一性の双方が生じる。これらより、遺伝子異常の不均一性が、画像や病理組織像の不均一性に影響しており、これらの因子の相関を検討することが本疾患の病態の理解に重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、遺伝子異常と病理組織像や放射線画像とどのように関連するのかを統合的に解析することで、「クローン進化を通してどのように腫瘍が放射線画像や病理所見において異なる像に変化し不均一性を獲得していくのか」について基礎的な理解を深めることを目指した。

3. 研究の方法

本研究では、施設倫理委員会で承認を得、研究について同意を得られた患者より得た、腫瘍サンプル・放射線画像・病理標本を用い、検討を行った。収集されたコホートを WHO grade II-III 神経膠腫と、WHO grade IV 神経膠腫(膠芽腫)に分類し、それぞれで解析を行った。また、同一症例において、複数箇所サンプルや、初発・再発時の解析を行うことで、クローン進化と不均一性について検討を行った。

(1) 遺伝子解析

凍結腫瘍検体抽出 DNA を用い、本腫瘍における主だった遺伝子変異を検索した。点突然変異はサンガー法 (IDH1, IDH2, TERT promoter, H3F3A, BRA, TP53F 等)、遺伝子コピー数異常は MLPA 法 (CDKN2A, CDK4, PTEN, EGFR, PDGFRA, MDM2, TP53)、MGMT のメチル化状態をメチル化特異的 PCR 法で評価した。本疾患において重要視されている 1 番染色体短腕・19 番染色体長腕の欠失 (1p/19q 共欠失) については、FISH 法および MLPA 法を用い評価した。また、一部の症例では、マイクロアレイを用いたコピー数・LOH 解析および、次世代シーケンサーを用いた全ゲノムシーケンスを行った。

(2) 画像解析

本解析では MRI 画像 (T2WI, T1WI, FLAIR, T1Gd 造影) を用いた。各シーケンズにおいて、腫瘍、腫瘍周囲脳浮腫領域を関心領域とし、各領域の平均・中央値・最大・最小値・分散・エントロピー等に加え、関心領域の辺縁のシャープさ等、100 超のパラメーターを数値化し抽出した。また、標準脳画像 (MNI152) への投影を行い、VBLM (voxel based lesion mapping) 法で腫瘍の占有部位の視覚化をすると共に、解剖学的各部位における占有率を数値化した。

(3) 病理組織像

光顕所見に基づく形態学的評価に加え、免疫染色 (ATRX, IDH1, TP53, MIB-1 等) による評価を行った。

(4) 統合的解析

上記 1) で得られた遺伝子異常を元に、各症例あるいはサンプルを遺伝子型ごとに分類し、2)-3) の所見を比較した。また、画像所見より遺伝子型が推定できるかを機械学習を用い、検討した。

4. 研究成果

(1) WHO grade II-III 神経膠腫における遺伝子-MRI 画像の統合的解析

199 例の WHO grade II-III 神経膠腫の MRI 画像と遺伝子異常の統合的解析を行い得た。遺伝子型は、Astro 型 (IDH1/2 変異あり-TERT promoter 変異なし)、Oligo 型 (IDH1/2 変異-TERT promoter 双方あり)、IDH 野生型 (IDH1/2 変異なし) の 3 型に分類した。

VBLM 法により腫瘍の存在確率を視覚することで、IDH1/2 変異のある Astro 型、Oligo 型は前頭葉に好発するという既知の所見に加え、後者は特に前頭葉内側(大脳半球間裂面)に好発し、前者は前頭葉の円蓋側および側頭葉前方に好発することが明らかにできた(図 1)。

さらに、100 超の画像パラメーターにおける上記

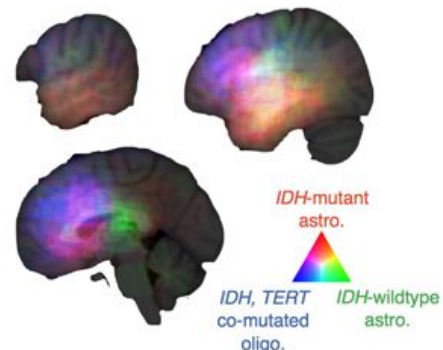


図 1: 腫瘍占拠部位の可視化 (Arita et al, Sci Rep 2018)

3型の分類の関係を検討し、位置情報、比表面積、造影の程度などが有意に異なることが明らかとなった。さらに、IDH変異の有無の予測について機械学習を用いたモデルを構築すると、80%以上の正確度を示した。一方で、これら3型の弁別については56-74%の正確度に止まり、より予測アルゴリズムや放射線画像解析技術の改良を要すると考えられた。

これらより、WHO grade II-III神経膠腫において、遺伝子異常と放射線画像特性は一定の相関があり、放射線画像は腫瘍の遺伝子型を反映していることが示唆された。

(2)WHO grade IV神経膠腫(膠芽腫)における遺伝子-MRI画像の統合的解析

210例の初発膠芽腫症例のサンプルを収集し、遺伝子解析を行った。国内で今回収集されたコホートにおける遺伝子点突然変異(TERT, TP53など)や遺伝子コピー数異常(EGFR増幅など)の頻度について、米国のリファレンスデータであるTCGA(The Cancer Genome Atlas)コホートなどと異なることが明らかになった。本所見は本疾患の遺伝子変異における地域差があることを示唆しているものであり、その臨床的意義については検討中である。

さらに、放射線画像と遺伝子異常の関連について、(1)同様に検討を継続している。

(3)腫瘍内不均一性の検討

腫瘍の性質を大きく定義するとされる truncal mutation(腫瘍発生の初期に生じる遺伝子異常であり、腫瘍のクローンで共有されると想定されている)を中心に、同一症例における初発・再発時や複数箇所での評価を行った。Truncal mutationはほとんどの症例で複数サンプル全てで共有されていたが、例外的に遺伝子型が大きく異なる症例が存在することが明らかになった。この例外症例に着目し、サンプリング部位を含めた画像所見、網羅的遺伝子解析、病理所見の対比を進めている。一方、truncal mutationと考えられている1p/19q共

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

1. Achiha T, Arita H, Kagawa N, Murase T, Ikeda JI, Morii E, Kanemura Y, Fujimoto Y, Kishima H., Enchondromatosis-associated oligodendroglioma: case report and literature review., Brain Tumor Pathology 2018, 35(1): 36-40 doi: 10.1007/s10014-017-0303-y. 査読有
2. Takano K, Kinoshita M, Arita H, Okita Y, Chiba Y, Kagawa N, Watanabe Y, Shimosegawa E, Hatazawa J, Hashimoto N, Fujimoto Y, Kishima H., Influence of region-of-interest designs on quantitative measurement of multimodal imaging of MR non-enhancing gliomas. Oncology Letters 2018, 15(5): 7934-7940 doi: 10.3892/ol.2018.8319. 査読有
3. Sasaki T, Fukai J, Kodama Y, Hirose T, Okita Y, Moriuchi S, Nonaka M, Tsuyuguchi N, Terakawa Y, Uda T, Tomogane Y, Kinoshita M, Nishida N, Izumoto S, Nakajima Y, Arita H, Ishibashi K, Shofuda T, Kanematsu D, Yoshioka E, Mano M, Fujita K, Uematsu Y, Nakao N, Mori K, Kanemura Y., Journal of NeuroOncology 2018, 140(2): 329-339 doi: 10.1007/s11060-018-2957-7. 査読有
4. Arita H, Kinoshita M, Kawaguchi A, Takahashi M, Narita Y, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Okita Y, Nonaka M, Moriuchi S, Takagaki M, Fujimoto Y, Fukai J, Izumoto S, Ishibashi K, Nakajima Y, Shofuda T, Kanematsu D, Yoshioka E, Kodama Y, Mano M, Mori K, Ichimura K, Kanemura Y. Lesion location implemented magnetic resonance imaging radiomics for predicting IDH and TERT promoter mutations in grade II/III gliomas. Scientific Reports 2018, 8(1):11773. doi: 10.1038/s41598-018-30273-4. 査読有
5. Hirata T, Kinoshita M, Tamari K, Seo Y, Suzuki O, Wakai N, Achiha T, Umehara T, Arita H, Kagawa N, Kanemura Y, Shimosegawa E, Hashimoto N, Hatazawa J, Kishima H, Teshima T, Ogawa K. Journal of Neurosurgery 2018. E-pub doi: 10.3171/2018.4.JNS1859. 査読有
6. Eino D, Tsukada Y, Naito H, Kanemura Y, Iba T, Wakabayashi T, Muramatsu F, Kidoya H, Arita H, Kagawa N, Fujimoto Y, Takara K, Kishima H, Takakura N. Cancer Research 2018, 78(23): 6607-6620 doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0498. 査読有
7. Kinoshita M, Sakai M, Arita H, Shofuda T, Chiba Y, Kagawa N, Watanabe Y, Hashimoto N, Fujimoto Y, Yoshimine T, Nakanishi K, Kanemura Y., Introduction of High Throughput Magnetic Resonance T2-Weighted Image Texture Analysis for WHO Grade 2 and 3 Gliomas. PLoS One 2016, 11(10): e0164268 doi: 10.1371/journal.pone.0164268. 査読有

〔学会発表〕(計8件)

1. 有田英之 他 「IDH変異型腫瘍におけるTERT変異と1p/19q共欠失の予後因子としての意義」 一般社団法人日本脳神経外科学会 第77回学術総会 2018年10月11日
2. 有田英之 他 「IDH変異型腫瘍におけるTERT変異と1p/19q共欠失の予後因子としての意義の比較」 第36回日本脳腫瘍病理学会 2018年9月25日

3. 有田英之 他 「Adult gliomas concurrently harboring 1p/19q codeletion and TP53 mutation: molecular analysis of two cases」第36回日本脳腫瘍病理学会 2018年9月26日
4. 有田英之 他 「1p/19q 共欠失と TP53 変異を併せ持つ神経膠腫の分子遺伝学的検討」第36回日本脳腫瘍学会 2018年12月3日
5. 有田英之、木下学、川口淳、児玉良典、高橋雅道、寺川雄三、沖田典子、高垣匡寿、深井順也、石橋謙一、露口尚弘、森内秀祐、泉本修一、中島義和、藤田浩二、埜中正博、藤本康倫、森鑑二、正札智子、成田善孝、市村幸一、金村米博 「Lower Grade Glioma の Radiogenomic 解析」第35回日本脳腫瘍学会学術集会 2017年11月27日
6. 有田英之、木下学、高橋雅道、寺川雄三、沖田典子、深井順也、石橋謙一、埜中正博、泉本修一、中島義和、森鑑二、藤本康倫、成田善孝、市村幸一、貴島晴彦、金村米博 「国内大規模コホートをを用いた Lower Grade Glioma の Radiogenomic 解析」第76回日本脳神経外科学会総会 2017年10月12日
7. Arita H, Yamasaki K, Kanemura Y, Mukasa A, Nagane M, Ueki K, Nishikawa R, Komori T, Narita Y, Ichimura K: A combination of TERT and MGMT improves the prognostication of glioblastomas, 5th quadrennial meeting of the World Federation of Neuro-Oncology societies. 2017年5月6日
8. 有田英之、木下学、高橋雅道、寺川雄三、沖田典子、高垣匡寿、深井順也、石橋謙一、児玉良典、埜中正博、露口尚弘、森内秀祐、泉本修一、中島義和、正札智子、成田善孝、市村幸一、森鑑二、藤本康倫、金村米博 「Grade II-III 神経膠腫の遺伝子変異と発生部位:国内大規模コホート Radiogenomics 解析」第34回日本脳腫瘍学会学術集会 2016年12月6日

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

該当無し

6. 研究組織

(1)研究分担者

該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：梅原 徹

ローマ字氏名：(UMEHARA, toru)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。