

令和元年6月4日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20025

研究課題名（和文）効果的治療法選択のための脳腫瘍の分子生物学的研究

研究課題名（英文）Molecular biological study of brain tumors for optimal treatment

研究代表者

市村 佐衣子 (Ichimura, Saeko)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・共同研究員

研究者番号：30464952

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）：1p19q共欠失を持つグリオーマ57例における予後因子の検討を行ったところ、治療開始時の年齢、手術摘出率、腫瘍最大径、初回補助療法、組織型、MGMTメチル化の有無などの因子と予後との関連性はなく、Grade と19p gainが予後不良因子であることが示唆された。妊娠中あるいは分娩後に発症した脳腫瘍13例においてVEGFR-1/2、EGFR、c-Mycは妊娠におけるいずれの時期でも発現が認められ、性ホルモンレセプター及びHER-2は分娩直後に発現が多く認められた。c-Mycの増幅あるいは発現増加が複数の症例で認められ、妊娠中あるいは分娩後に腫瘍が増大する機序との関連性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1p19q共欠失を持つ神経膠腫について、染色体解析、遺伝子解析などを行い、臨床情報と照らし合わせ、今後の治療方針の決定や経過の推測に有用な情報を得る事を目的とし、研究を行った。Follow-up中央値は約9年と類似の既報告に比べて長く、意義ある報告であったと考えられる。妊娠に関連して発症（症状が出現）あるいは症状の増悪を認めた脳腫瘍症例は極めて稀であり、現時点でそれらの症例に対し分子生物学的解析を行った国内外での報告は殆どみられない。本研究で得られた知見が将来妊娠中あるいは分娩後に発症した脳腫瘍患者の治療や予後の予測において有益となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：First study included 57 patients with codeleted gliomas. No significant difference was observed in the overall survival of the patients with respect to age, degree of resection, maximum tumor diameter, histological subtype, and MGMT promoter methylation status. Gain of chromosome 19p and grade III histology were associated with shorter OS and they might be negative prognostic factors for the patients with gliomas showing total 1p19q loss. Second study included 13 patients with brain tumors manifested or progressed during pregnancy. Expression of VEGFR-1/2, EGFR and c-Myc were observed regardless of the stage of pregnancy. Sex hormone receptors and HER-2 were mainly expressed in the tumors progressed during the postpartum. There was no specific CNAs shared between the pregnancy-associated brain tumors. However, it should be noted that an anaplastic astrocytoma with IDH mutation progressed from the precedent grade 2 tumors showed numerous CNAs including amplification of the c-Myc locus.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：脳腫瘍 分子生物学

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

1. 研究開始当初の背景

神経膠腫の治療は組織学的分類に基づいて行われるが、放射線照射と抗がん剤(テモゾロミド)によるほぼ画一的治療が行われているのが現状であり、たとえ低悪性度でも10年以内に死に至る。しかし、神経膠腫では、同じ組織診断でも治療効果や予後は相当に多様である。腫瘍の生物学的特性を反映し客観性のある分類を構築するために、分子生物学的分類の重要性が認識されるようになった。近年、神経膠腫の予後因子として、染色体1番短腕(1p)、19番長腕(19q)の同時欠失(1p19q共欠失)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のメチル化の有無は治療反応性、生命予後と関連し、また、クエン酸サイクルの酵素であるIDH1(isocitrate dehydrogenase 1)遺伝子変異の有無は生命予後と関連すると報告されている。これらの中で、生命予後因子としてはIDH1が最も強く、一方、化学療法反応性の予測因子としては1p19q共欠失とMGMTメチル化が重要である。しかし特に本邦では、未だに大学病院においてすらほとんどの施設で分子生物学的解析を取り入れておらず、放射線照射とテモゾロミドによる画一的治療が行われている。遺伝子情報を活用し、神経膠腫において生物学的特徴に従った個別化良好を確立、普及させることは急務である。また、妊娠に関連して発症(症状が出現)あるいは症状の増悪を認めた脳腫瘍症例は極めて稀であり、現時点でそれらの症例に対し分子生物学的解析を行った国内外での報告は殆どみられない。よって、これらの脳腫瘍を対象として、過去の症例も含めて分子生物学的解析を行うことが望ましいと考えられた。

2. 研究の目的

本研究は脳腫瘍を対象として、効果的治療法選択のための、腫瘍の生物学的特性を反映する(=治療効果や生命予後と関連する)分子生物学的分類の確立、腫瘍発生メカニズムの解明などを目的とする。

今回、上記から派生した課題として下記について検討した。

(1) 1p19q共欠失を持つ神経膠腫における予後因子の解析

1p19q共欠失を持つ神経膠腫について、染色体解析、遺伝子解析などを行い、臨床情報と照らし合わせ、今後の治療方針の決定や経過の推測に有用な情報を得る事を目的とする。

(2) 妊娠中に発症した脳腫瘍における腫瘍増大機序の検討

妊娠に関連して発症(症状が出現)あるいは症状の増悪を認めた脳腫瘍症例において分子生物学的解析を行い、その特徴を検索し、今後の治療方針の決定や経過の推測に有用な情報を得る事を目的とする。

(3) 1p19q共欠失を持たない神経膠腫における、病理組織学的、分子生物学的予後因子の検討
1p19q共欠失を持たない神経膠腫について、染色体解析、遺伝子解析などを行い、臨床情報と照らし合わせ、今後の治療方針の決定や経過の推測に有用な情報を得る事を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 1p19q共欠失を持つ神経膠腫における予後因子の解析

治療のために既に摘出され保管されている1p19q共欠失を持つ神経膠腫の標本について、染色体解析、遺伝子解析など(Comparative genomic hybridization法による腫瘍染色体解析、免疫染色法による解析など)を行い、解析結果と臨床情報から予後因子の検討を行う。

(2) 妊娠中に発症した脳腫瘍における腫瘍増大機序の検討

妊娠に関連して腫瘍が増大したと考えられる脳腫瘍を対象とする。このような症例において治療

目的で摘出された妊娠中に発症した脳腫瘍の標本を用いて、染色体解析、遺伝子解析、タンパク解析など（Comparative genomic hybridization法による腫瘍染色体解析、免疫染色法による解析など）を行い、妊娠中に発症した脳腫瘍の分子生物学的特徴を検索する。

(3) 1p19q共欠失を持たない神経膠腫における、病理組織学的、分子生物学的予後因子の検討治療のために既に摘出され保管されている1p19q共欠失を持たない神経膠腫の標本について、染色体解析、遺伝子解析など（Comparative genomic hybridization法による腫瘍染色体解析、免疫染色法による解析など）を行い、解析結果と臨床情報から予後因子の検討を行う。

4. 研究成果

(1) 本研究ではcodeleted gliomaにおける組織学的特徴、染色体異常、MGMTなどの既知の予後因子につき分析し1p19q共欠失を持つグリオーマにおける予後因子の検討を行った。1990年から2010年の間に当院及び関連病院で手術を行った218症例のWHO grade 2、3のグリオーマのうち1p19q共欠失を58症例で認め、うち同意を得られた57症例を対象とした。なおoligo系腫瘍の評価の概念は時代とともに変遷があり今回1人の病理診断医にて再度すべての切片を見直し再診断を行った。これらの症例においてComparative genomic hybridization(CGH)による染色体解析、MGMTプロモーターメチル化解析を行い、治療開始時の年齢(40歳以上/40歳未満)、手術摘出率(全摘/部分摘出/生検)、腫瘍最大径(5cm以上/5cm未満)、初回補助療法(放射線療法/化学療法)、Grade(/), 組織型(Oligo系/Astro系)、CGHにおいて10%以上みられた染色体異常、MGMTメチル化の有無などの臨床的予後因子を含めて予後因子の解析を行った。結果、Grade と19p gainという因子がOSの短縮と関連性があり($p=0.061$ (Fig.1), 0.019 (Fig.2))、それ以外の因子の関連性はなく、1p19q共欠失を持つ腫瘍においてGrade と19p gainが予後不良因子であることが示唆された。本研究結果を2017年3月にJournal of Neuro-Oncology誌にて発表した。(Molecular-genetic and clinico pathological factors in patients with gliomas showing total 1p19q loss: gain of chromosome 19p and histological grade negatively correlate with patient's prognosis. J Neurooncol (2017)132:119-126) Follow-up中央値は約9年と類似の既報告に比べて長く、意義ある報告であったと考えられる。

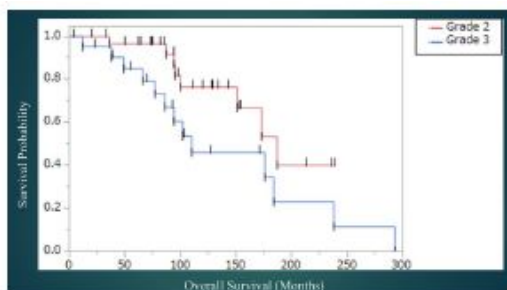


Fig.1 Kaplan-Meier analysis of the overall survival (OS) of patients with gliomas showing total 1p19q loss with respect to histological grade. The red line denotes grade II tumors, and the blue line denotes grade III tumors. Median OS: grade II, 188 months; grade III, 110 months ($P=0.061$)

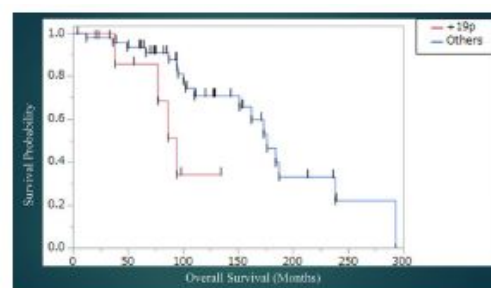


Fig.2 Kaplan-Meier analysis of the overall survival (OS) of patients with gliomas showing total 1p19q loss with or without gain of 19p. The red line denotes patients with gliomas showing a gain of 19p, and the blue line denotes patients with codeleted gliomas without 19p gain. Median OS: gliomas showing a gain of 19p, 94 months; other gliomas, 175 months ($P=0.019$)

(2) 2003年から2017年の間に当院及び共同研究機関で手術を行った症例のうち妊娠中あるいは分娩後に発症した脳腫瘍13例（神経膠腫6例、髄膜腫3例、脊索腫2例、聴神経鞘腫2例）を対象とした。CGHによる腫瘍染色体解析、ホルモン受容体やgrowth factor(estrogen receptor (ER, 1D5)、progesterone receptor (PgR, PgR636)、androgen receptor (AR, AR27)、EGFR (31G7)、HER-2 (CB11)、VEGFR-1 (AF321)、VEGFR-2 (55B11))の免疫組織化学的解析を行い、腫瘍型や発症時期(各ホルモン分泌のピーク時期など)との関連、共通する分子生物学的異常などにつき検討

した。結果、神経膠腫でAR、EGFR、VEGFR-1/2、c-Myc、髄膜種でER、PgR、EGFR、HER-2、VEGFR 1/2、脊索腫でc-Myc、聴神経鞘腫でVEGFR-1/2の発現が認められた。VEGFR-1/2、EGFR、c-Mycは妊娠早期、中期、後期、分娩直後のいずれの時期でも発現が認められた。ER、PgR、AR及びHER-2は分娩直後に比較的発現が多く認められた。CGHおよび免疫染色にてc-Myc遺伝子の増幅あるいは発現増加が複数の症例で認められ、妊娠中あるいは分娩後に腫瘍が増大する機序との関連性が示唆された。現在、論文投稿を準備中である。社会的な意義としては、本研究で得られた知見が将来妊娠中あるいは分娩後に発症した脳腫瘍患者の治療や予後の予測において有益となる可能性がある。

(3) 1990年から2016年の間に当院で手術を行ったWHO grade 2、3の神経膠腫93症例につき、病理組織型の再検討、組織学的グレード、CGHにおける染色体コピー数異常、IDH変異の有無、ATRX遺伝子発現の有無、MGMT及びTERT遺伝子プロモーター領域変異の有無などの形態学的・分子生物学的解析及び臨床因子を解析し、生命予後との関係を分析し、検討を行った。病理組織型の再検討においては、当院病理診断部のみならず、他院神経病理医による再判定も行い、特に形態学的乏突起膠腫の意義を分析した。現在、論文投稿準備中である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2件)

- (1) Tokunori Kanazawa, Hirokazu Fujiwara, Hidenori Takahashi, Yuya Nishiyama, Yuichi Hirose, Saeko Tanaka(Ichimura), Kazunari Yoshida, Hikaru Sasaki. Imaging scoring systems for preoperative molecular diagnoses of lower-grade gliomas. Neurosurgical Review. 2018年. DOI: 10.1007/s10143-018-0981-x. 査読あり.
- (2) Saeko Hayashi(Saeko Ichimura), Yohei Kitamura, Yuichi Hirose, Kazunari Yoshida, Hikaru Sasaki. Molecular-genetic and clinicopathological prognostic factors in patients with gliomas showing total 1p19q loss: gain of chromosome 19p and histological grade negatively correlate with patient's prognosis. Journal of Neuro-Oncology. 132巻. 2017年.119 - 126頁. DOI: 10.1007/s11060-016-2344-1. 査読あり .

〔学会発表〕(計 3件)

- (1) Saeko Tanaka (Saeko Ichimura). Molecular investigation of brain tumors progressing during pregnancy or postpartum period, The 14th meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology. 2017.
- (2) Saeko Tanaka (Saeko Ichimura). Molecular investigation of brain tumors progressing during pregnancy or postpartum period. Society of Neuro-Oncology. 2016.
- (3) Saeko Hayashi(Saeko Ichimura). Molecular investigation of brain tumors progressing during perinatal period. 分子脳神経外科学会. 2016.

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。