

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08990

研究課題名(和文) 悪性髄膜腫における標的可能遺伝子変異の同定と新規治療確立

研究課題名(英文) Identification of targeted gene mutations for precision based medicine in malignant meningioma

研究代表者

平石 哲也 (HIRAISHI, TETSUYA)

新潟大学・脳研究所・助教

研究者番号：80515734

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子パネルを利用することで悪性髄膜腫固有のドライバー変異同定可能であるという研究仮説を立てて本研究を計画した。髄膜腫自体の腫瘍細胞培養株は、持続継代を期待しなければ比較的培養可能であったが、安定して治療実験を行えるような持続継代株を樹立するのが困難であった。症例によってはTERT遺伝子を導入しての治療実験を試みたがその手法での細胞株樹立はできなかった。結果的に悪性髄膜腫ならびに希少悪性腫瘍での腫瘍細胞株樹立した。しかし、悪性髄膜腫に共通のドライバー遺伝子異常は判明しなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性髄膜腫の遺伝子異常基盤が、非常に多様であることが改めてわかった。目的であった悪性髄膜腫に共通のドライバー遺伝子異常は判明しなかった。そのため、髄膜腫の70%以上で強発現しているソマトスタチン受容体サブタイプ2a(SSTR2a)に着目し、表面抗原をターゲットとした近赤外光線免疫療法(NIR-PIT)への応用に着手している。この研究課題で樹立した腫瘍細胞培養株は、研究課題22K16652“難治性髄膜腫に対するSSTR2aを標的とした近赤外光線免疫療法の開発”と研究課題22K09251“希少悪性脳腫瘍への独自腫瘍細胞株を用いた薬剤スクリーニングによる新規治療法開発”で治療実験に活用していく。

研究成果の概要(英文)：We designed this study based on the hypothesis that a gene panel could be used to identify driver mutations of unique to malignant meningiomas. Tumor cell culture lines for meningioma were relatively culturable if continuous passage was not expected. However, it was difficult to establish a continuously passaged strain that could be used for stable therapeutic experiments. In some cases, we attempted to conduct therapeutic experiments by introducing the TERT gene, but were unable to establish cell lines using this method. As a result, tumor cell lines were established in malignant meningiomas and rare malignant brain tumors. However, no driver gene abnormalities common to malignant meningiomas were identified.

研究分野：脳神経外科

キーワード：悪性髄膜腫 独自培養細胞株 精密医療 遺伝子パネル検査

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、遺伝子発現解析技術の進歩により、髄膜腫に対する腫瘍発生機序の解明がなされるようになってきた。髄膜腫の遺伝子異常として最も頻度が高いのが、NF2 遺伝子(22q.12.2,merlin)である。通常、このNF2 遺伝子は神経線維鞘2型(neurofibromatosis type 2: NF2)の原因遺伝子であり、この疾患には髄膜腫や神経鞘腫が多発し、NF2 遺伝子の欠失がほぼ全例にみられる。その一方、孤発性髄膜腫や神経鞘腫でも40-80%にNF2 遺伝子の欠失がみられ、これらの腫瘍の発生に関与していると考えられている<sup>1)2)</sup>。25歳以下の若年発症髄膜腫では、NF2 40%、SMARCE1 14%の遺伝子変異が発見されている<sup>2)</sup>。孤発性髄膜腫の遺伝子解析においてNF2で36%、TNF receptor-associated factor 7(TRAFF7)で24%、Kruppel-like factor 4(KLF4)で10%、AKT1で13%、smoothed frizzled family receptor(SMO)で4%に変異がみられ、全体では79%でいずれかの変異がみついている<sup>1)</sup>。NF2、22番染色体欠失と、その他の異常は互いに排他的である。孤発性髄膜腫の発生機構は発生部位や組織型がいくつかの亜型に分けられる。これまでの髄膜腫の疾患概念を変えるものであった<sup>1)2)</sup>。一方、悪性髄膜腫(WHO II/III)の頻度は、約20%とされる。頻度の高い染色体異常<sup>3)</sup>があることが知られ、組織学的悪性度との相関も比較的高いことが知られていた。関連する遺伝子異常についてはまだ不明な点が多かった。1反応だけで複数遺伝子の変異を検出できるマルチプレックス遺伝子診断法も研究開始当初は、臨床応用されておらず共同研究施設での研究利用を積極的に進めていた。他領域の固形癌ではドライバー変異を効果予測因子とする分子標的薬が多数あるが、悪性髄膜では網羅的遺伝子解析の恩恵を受けることは少なく、髄膜腫に対する治療は、外科的摘出率向上、定位放射線治療の発展により、その治療法が進歩してきた。しかし、これらの単独または複合的な治療に抵抗性で良性の病理組織であっても再発を繰り返す例や悪性髄膜腫のように予後不良な症例が存在する。この悪性髄膜腫に対する新規治療を確立し、治療法開発のため、遺伝子パネル検査の中に悪性髄膜腫固有のドライバー遺伝子が存在するという仮説を立て、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

個別の悪性髄膜腫における遺伝子解析パネルを用いた標的可能遺伝子変異の同定を行い、新規治療を確立することが目的である。

### 3. 研究の方法

**方法 悪性髄膜腫の癌関連435遺伝子(FDA認可の分子標的薬に関連した69遺伝子を含む)を利用した遺伝子パネルによる標的可能遺伝子の検索**

方法のCANCERPLEX-JP<sup>®</sup>で癌関連400遺伝子以上の標的遺伝子パネルから探索した遺伝子異常の結果をもとにして治療標的を絞り込み、データの採取を行って検索しデータを蓄積する。研究が当初の計画どおりに進まない時は、本研究は悪性髄膜腫についてであるが、その他、希少悪性固形腫瘍に関しても順次検索を進めていくことで多角的に結果を出せる体制を整える。

**方法 患者固有の腫瘍細胞培養、必要に応じ患者腫瘍組織異種移植を行い、標的可能遺伝子変異に対する治療薬効果と作用機序の解明を行い、実臨床への応用を目指す**

過去の報告から術前からの悪性度診断は困難であることから、髄膜腫摘出時の検体から患者固有の腫瘍細胞を培養、継代する。Passage 初期での冷凍保存する。悪性髄膜腫および希少悪性腫瘍症例での培養し継代して当科固有の腫瘍細胞培養株保存しライブラリー化した。患者固有の腫瘍培養細胞株に治療標的分子標的薬を投与し、その治療効果を評価する。有効な薬剤では患者腫瘍組織異種移植を行い、治療薬の効果とその作用機序解明を行う。in vitro、in vivoで有効性を検証し実臨床への応用を目指し、悪性髄膜腫に対するプレジジョンメディシンを実現するための基盤を作る。さらには今後の新規治療開発の礎とする。

表1：希少悪性腫瘍細胞培養株（一部抜粋）

症例	病理	腫瘍細胞培養株
34 M	Atypical meningioma	NGT 117/
30 F	Anaplastic ependymoma	NGT 118 / 優
70 F	Solitary Fibrous Tumor(SFT)/Hemangiopericytoma(HPC)	NGT 121 / 不良
4 M	Choroid plexus carcinoma	NGT 131 / 良
66 F	SFT / HPC	NGT 141 /
65 M	Anaplastic meningioma	NGT 144 /
72 M	Atypical meningioma	NGT 164 / 良
4 M	Atypical meningioma	NGT 168 / 不良
2 M	Anaplastic ependymoma	NGT 175 / 優
66 F	SFT / HPC	NGT 178 / 良
69 M	Chordoma	NGT 180 / 不良
58 F	Clear cell meningioma	NGT 182 / 良

### 4. 研究成果

髄膜腫自体の腫瘍細胞培養株樹立は、持続継代を期待しなければ比較的容易に培養可能であったが、安定して治療実験を行えるような持続継代株を樹立するのが非常に困難であった。症例によってはTERT 遺伝子を導入しての治療実験を試みたがその手法での細胞株樹立はできなかった。結果的に臨床的および組

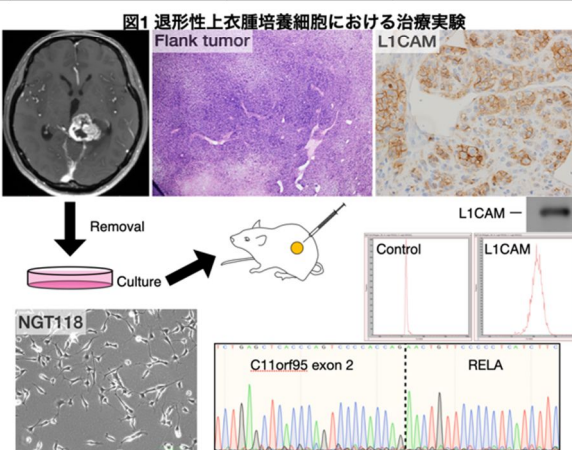
織学的悪性度の高い腫瘍で 2 系統の独自の腫瘍培養細胞株で樹立ができた。当初計画通りにいかないため、希少固形腫瘍での腫瘍細胞株樹立を試み樹立可能であった症例もある(表 1: 独自自立培養細胞株)。上記, 研究方法に則って希少悪性脳腫瘍で遺伝子パネル検査及び細胞培養した症例を示した(表 2)。また, 希少固形腫瘍で残念ながら継代持続が可能な腫瘍細胞培養株が樹立できなかったものの, 本学独自の遺伝子パネル検査を施行した症例で, 当初ドライバー遺伝子異常として *BRAF* 遺伝子異常を有することが判明し, 海外の共同研究施設で精査を行った結果, *C11orf95/RELA* 遺伝子異常を有する退形成上衣腫であることが判明した症例を認めた(図 1)。

悪性髄膜腫の遺伝子異常基盤が, 非常に多様であることが改めてわかった。残念ながら悪性髄膜腫に共通のドライバー遺伝子異常は判明しなかった。そのため, 異なる観点からの

新規治療法の確立が重要であることがわかった。最近の報告では, <sup>4)</sup> 髄膜腫自体を DNA methylation を基に 3 群に分類し, Merlin-intact, Immune enriched, Hypermitotic としている。そのため当面, 髄膜腫の組織型や悪性度に関わらず 70%以上で強発現しているソマトスタチン受容体サブタイプ 2a (SSTR2a)に着目し, 当教室で取り組んでいる表面抗原をターゲットとした近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT)への応用に着手している。この研究課題で得られた知見を基に悪性髄膜腫で樹立した腫瘍細胞培養株は, 研究課題 22K16652 “ 難治性髄膜腫に対する SSTR2a を標的とした近赤外光線免疫療法の開発 ” で引き続き研究利用し, 希少固形腫瘍で樹立した腫瘍細胞培養株は研究課題 22K09251 “ 希少悪性脳腫瘍への独自腫瘍細胞株を用いた薬剤スクリーニングによる新規治療法開発 ” で治療実験に活用していく。

表2 希少悪性脳腫瘍で遺伝子パネル検査及び細胞培養した症例

症例 年齢/性別	病理	腫瘍細胞培養株 (発育状況)	遺伝子変異
23 F	Anaplastic meningioma →Anaplastic ependymoma	NGT129 (不良)	BRAF p.V600E, CDKN2A loss, CDKN2B loss RELA fusion
8 M	Primary meningeal melanomatosis	NGT119 (不良)	PIK3R1, PTK2, ATM, SF3B1, MYC
74 F	Meningioma→ Desmoid type fibromatosis	NGT157 (優)	NF2(c.T1340+2C), CDKN1B loss



参考文献)

- 1) Clark VE, Erson-Omay EZ, Serin A, et al. Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO. Science 2013 Mar 1;339(6123):1077-80. doi: 10.1126/science.1233009.
- 2) Association of Genetic Predisposition With Solitary Schwannoma or Meningioma in Children and Young Adults. JAMA Neurol. 2017 Sep 1;74(9):1123-1129. doi: 10.1001/jamaneurol.2017.1406.
- 3) Domingues P, González-Tablas M, Otero Á, et al. Genetic/molecular alterations of meningiomas and the signaling pathways targeted. Oncotarget. 2015 May 10;6(13):10671-88. doi: 10.18632/oncotarget.3870.
- 4) Choudhury A, Magill ST, Eaton CD, et al. Meningioma DNA methylation groups identify biological drivers and therapeutic vulnerabilities. Nat Genet. 2022 May;54(5):649-659. doi: 10.1038/s41588-022-01061-8.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 平石哲也, 藤井幸彦	4. 巻 27
2. 論文標題 【麻酔科医を取り巻く医療機器・器具-手術室のことをもっと知りたいあなたへ】医療用ナビゲーションシステム 実臨床でのトリセツ(解説/特集)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 LiSA	6. 最初と最後の頁 648-652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoyoshi Ota, Manabu Natsumeda, Shisei Yoshida, Yoshihiro Tsukamoto, Jun Watanabe, Yu Kanemaru, Kazuhiro Ando, Yuuichi Yoshida, Tetsuya Hiraishi, Kouichirou Okamoto, Masayuki Nagahashi, Toshifumi Wakai, Akiyoshi Kakita, Makoto Oishi and Yukihiro Fujii	4. 巻 5
2. 論文標題 A dramatic, transient effect of nivolumab combined with whole-brain irradiation for the treatment of primary meningeal melanomatosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports and Reviews	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15761/CCRR.1000451	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 平石哲也, 梶田学, 岡田正康, 大石誠, 藤井幸彦	4. 巻 2(1)
2. 論文標題 悪性髄膜腫における個別化医療の可能性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 54-58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平石哲也, 大石誠, 小倉良介, 佐野正和, 藤井幸彦
2. 発表標題 聴神経腫瘍手術における単・双極刺激での刺激反応強度の違い
3. 学会等名 第50回日本神経生理学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平石哲也, 米岡有一郎, 小倉良介, 岡田正康, 佐野正和, 大石誠, 藤井幸彦
2. 発表標題 経鼻内視鏡手術における 多層性鞍底再建術は術後髄液漏を減少させたか?
3. 学会等名 第27回日本神経内視鏡学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平石哲也, 大石誠, 小倉良介, 佐野正和, 藤井幸彦
2. 発表標題 聴神経腫瘍摘出後に放射線治療施行し, 再摘出を必要とした症例の検討
3. 学会等名 第29回日本聴神経腫瘍研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平石哲也, 大石誠, 小倉良介, 中村公彦, 佐野正和, 高尾哲郎, 吉村淳一, 福多真史, 藤井幸彦
2. 発表標題 術者継代を行いながらの当科における聴神経腫瘍の治療成績
3. 学会等名 一般社団法人 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平石哲也 大石誠 佐野正和 小倉良介 温城太郎 藤井幸彦
2. 発表標題 外視鏡を用いた頭蓋底手術への適用拡大の可能性 ~鏡視下手術元年~
3. 学会等名 第31回日本頭蓋底外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平石哲也 大石誠 佐野正和 小倉良介 温城太郎 澁谷航平 藤井幸彦
2. 発表標題 顕微鏡手術は、外視鏡手術で 代替するようになるのか？
3. 学会等名 第78回日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平石哲也 大石誠 佐野正和 小倉良介 温城太郎 澁谷航平 藤井幸彦
2. 発表標題 顕微鏡手術は、外視鏡手術で代替するようになるのか？-エクソスコープの現状と未来-
3. 学会等名 第26回日本神経内視鏡学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平石哲也 大石誠 齋藤祥二 安藤和弘 藤井幸彦 松山洋 山崎恵介 植木雄志 佐々木崇暢 堀井新
2. 発表標題 直近の治療例から鑑みた嗅神経芽細胞腫治療方針
3. 学会等名 第30回日本頭蓋底外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平石哲也 大石誠 高尾哲郎 佐野正和 中村公彦 福多真史 藤井幸彦
2. 発表標題 三叉神経痛の神経血管減圧術による100%改善は可能か？
3. 学会等名 第21回日本脳神経減圧術学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平石哲也 米岡有一郎 岡田正康 中村公彦 佐野正和 大石誠 藤井幸彦
2. 発表標題 非機能的下垂体腺腫再治療例の検討
3. 学会等名 第23回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平石哲也 米岡有一郎 岡田正康 中村公彦 佐野正和 大石誠 藤井幸彦
2. 発表標題 非機能的下垂体腺腫再治療例の検討
3. 学会等名 一般社団法人 日本脳神経外科学会 第77回学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平石哲也 大石誠 栗田学 温城太郎 安藤和弘 太田智慶 吉田雄一 藤井幸彦
2. 発表標題 3D-Exoscopeを用いた脳腫瘍摘出の可能性
3. 学会等名 第25回日本神経内視鏡学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大石 誠  (Oishi Makoto)  (00422593)	新潟大学・脳研究所・准教授    (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	梶田 学  (Manabu Natsumeda)  (00515728)	新潟大学・脳研究所・助教    (13101)	
研究分担者	永橋 昌幸  (Masayuki Nagahashi)  (30743918)	新潟大学・医歯学総合病院・研究准教授    (13101)	
研究分担者	藤井 幸彦  (Yukihiko Fujii)  (40283014)	新潟大学・脳研究所・教授    (13101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関