

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16552

研究課題名(和文)血管芽腫検体とVHL病特異的iPS細胞を用いた新規腫瘍血管新生抑制療法の創出

研究課題名(英文)Creation of novel tumor angiogenesis inhibitory therapy using hemangioblastoma specimens and VHL disease-specific iPS cells

研究代表者

高柳 俊作 (Takayanagi, Shunsaku)

東京大学・医学部附属病院・特任講師(病院)(助教)

研究者番号：90406489

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、当科の血管芽腫手術検体とそれらから樹立されたVHL病特異的iPS細胞を用いて解析することで、新規血管新生抑制療法を構築する事を目的とした。まず、20例の血管芽腫症例の網羅的メチル化解析を行った。新規原因遺伝子候補は同定されなかった。コピー数解析も行うと、悪性の経過をたどった症例で多数のコピー数異常を認め悪性転化に関与している可能性が示された。また、クラスタリング解析を行うと血管芽腫は3つのグループに分かれるかもしれない事も判明した。  
VHL病特異的iPS細胞は培養条件により血管芽腫様の腫瘍ができるのは確認されていたが、なかなか安定的に培養するのは困難な状態であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、残念ながら有意な血管芽腫の新規原因遺伝子候補を同定する事は出来なかった。しかし、本研究において、悪性の経過をたどった症例で多数のコピー数異常が見つかり、従来は良性腫瘍と思われていた腫瘍であっても、コピー数異常により悪性の経過をたどる可能性が示された。また、クラスタリング解析により血管芽腫が3つのグループに分かれるかもしれない事がわかり、従来は単一と思われていた腫瘍であっても、別々の特徴をもった腫瘍である可能性が示された。良性腫瘍であるが血管新生旺盛である血管芽腫の様々な特徴が今回新たに判明し、今後の新規血管新生抑制療法開発につなげられる可能性があると思われる。

研究成果の概要(英文): In this study, we aimed to construct a novel anti-angiogenic therapy by analyzing hemangioblastoma surgical specimens of our department and VHL disease-specific iPS cells established from them. First, we performed a comprehensive methylation analysis of 20 hemangioblastoma cases. No new causative gene candidates were identified. Copy number analysis also showed the possibility that many copy number abnormalities were found in cases that followed a malignant course and were involved in malignant transformation. It was also found that hemangioblastomas may be divided into three groups by clustering analysis. It has been confirmed that VHL disease-specific iPS cells can form hemangioblastoma-like tumors depending on the culture conditions, but it was difficult to stably culture them.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：血管芽腫 VHL病 iPS細胞 血管新生抑制

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腫瘍血管が新生される事で、腫瘍は増大する事が可能となるため、腫瘍血管はがん治療のよい標的であると従来から考えられている。実際、VEGF (Vascular endothelial growth factor) を標的とした Bevacizumab (抗 VEGF 抗体) は、肺がん、大腸がん、悪性神経膠腫など、多くのがん種に対して有効とされ、日本でも保険承認されている。しかし、生存期間延長はほとんどなく、新機軸の腫瘍血管新生抑制療法の創出が望まれているのが現状である。

そこで、研究代表者(高柳)は、血管新生が特に旺盛な脳腫瘍である血管芽腫(hemangioblastoma、以後 HB と略)に着目して、網羅的ゲノム解析を行ってきた。これにより HB では、家族性腫瘍疾患 VHL 病の原因遺伝子である VHL の不活化を多く認める事がわかった。(Takayanagi S et al *Neuro Oncol* 2017)

悪性神経膠腫や HB に対して、抗 VEGF 抗体である Bevacizumab をはじめ、その他にも複数の分子標的治療薬の臨床試験がすでに行われているが、いずれも十分な臨床効果を認めていない。これは、悪性神経膠腫や HB の血管新生機序が、VEGF を中心とした機序以外にも存在することが大きな原因だと思われる。腫瘍血管新生において VEGF を中心とした機序以外にどのようなものが存在するのかを知るためには、血管新生が旺盛である血管芽腫の腫瘍化において、VHL 以外の候補遺伝子にはどのようなものがあり、それらは血管新生においてどのような作用をしているのか?を解析する事が非常に有用と考えられた。また、血管芽腫症例の遺伝子異常と臨床経過の関係性も新規治療探索のために重要と考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、腫瘍血管新生とその抑制の新規機序解明のため、以下の事を行う。

- (1) まず、血管芽腫検体に対して更なる網羅的ゲノム解析を追加して、VHL やその他の原因遺伝子候補の解析を行う。
- (2) また、血管芽腫症例の臨床経過を詳細に解析し、遺伝子異常との関係性を調査する
- (3) その後、原因遺伝子候補に対して、京都大学 iPS 細胞研究所と協力して樹立した VHL 病特異的 iPS 細胞などを利用して機能解析を行う事で、腫瘍血管新生の機序解明を行い、最終的には新規の腫瘍血管新生抑制療法の構築を目標とする。

### 3. 研究の方法

- (1) 1995年から2019年の間に、東京大学医学部附属病院脳神経外科(以下、当科と略)と埼玉医科大学総合医療センターにおいて腫瘍摘出術を施行した症例計61腫瘍を対象とした。腫瘍検体全例が、WHO分類に従い、HBと病理学的に診断された。VHL病の診断はVHL病診療ガイドラインにある臨床的診断基準に則り行った。本研究は、東京大学大学院医学研究科ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会から承認された「脳腫瘍のゲノム・遺伝子解析とその臨床病理学的意義の解明」研究(#G3512)に基づいて行った。すべての対象症例の患者からは、文書による同意を取得した。

- (2) 上記の対象症例で摘出術において採取された腫瘍検体から DNA を抽出し、以下の遺伝子解析を行った。

VHL 遺伝子異常解析：ダイレクトシーケンス、ターゲットシーケンス、MLPA 解析、プロモータ領域のメチル化解析

網羅的メチル化解析 (Illumina® Infinium Human Methylation Bead Chip array)

を使用)

- (3) 対象となった症例の臨床経過、画像所見を全例調査し、遺伝子異常との関係性などを解析した。
- (4) 樹立した VHL 病特異的 iPS 細胞より HB 様の腫瘍モデルを作成し、それを用いて遺伝子解析を行う。

#### 4. 研究成果

- (1) 対象となった 61 例のうち、VHL 病群が 28 検体で、VHL 病ではない孤発性群が 33 検体あった。なんらかの VHL 遺伝子異常を認めたのは、VHL 病群では 100%(28/28)、孤発性例では 97%(32/33)であり、改めて HB において VHL 遺伝子異常が重要である事が分かった。
- (2) 網羅的メチル化解析のデータを用いて、コピー数解析を行ったところ、VHL 遺伝子がある 3 番染色体の異常のみを伴う事が多かった。しかし、悪性の経過をたどった症例において、多数のコピー数異常を認めた。従来は良性腫瘍と思われていた腫瘍であっても、コピー数異常により悪性の経過をたどる可能性が示された。
- (3) 網羅的メチル化解析のデータを用いて、クラスタリング解析も行った。従来、単一のグループと思われていた HB において、3 つのサブグループに分かれる可能性が示された。  
上記 に関しては、今後、論文発表予定である。
- (4) HB の臨床経過を調査して、脊髄 HB を伴う VHL 病症例で腫瘍周辺に附随する脊髄・延髄空洞症が急速に悪化し、呼吸困難を呈し気管切開が必要となった症例を 1 例認めた。腫瘍摘出術により症状は急速に改善した。延髄空洞症を伴う脊髄 HB 症例に関して文献的考察を付けて症例報告した。(Tuchiya et al. World Neurosurgery:2022(167);e127 ~ e136)
- (5) VHL 病特異的 iPS 細胞からは、VHL 遺伝子を不活化することで HB 様の腫瘍を作成する事ができたが、なかなか安定せず、遺伝子解析が困難であった。しかし、徐々に安定してきて、今後、遺伝子解析が可能になると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 2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 高柳 俊作	4. 巻 276(2)
2. 論文標題 von Hippel-Lindau病の脳神経外科領域における最新知識	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 160-161
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 高柳 俊作	4. 巻 29(11)
2. 論文標題 家族性腫瘍疾患von Hippel-Lindau病の最新知識からVHL病家系への総合的ケア	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 脳神経外科速報	6. 最初と最後の頁 1178-1184
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 高柳 俊作	4. 巻 36(5)
2. 論文標題 血管芽腫とVHL(von Hippel-Lindau) 病	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 597-600
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 Tsuchiya Takahiro, Takami Hirokazu, Yoshimoto Shoko, Nambu Shohei, Takayanagi Shunsaku, Tanaka Shota, Saito Nobuhito	4. 巻 167
2. 論文標題 Chronological Progression and Management of Syringobulbia Caused by Spinal Hemangioblastoma: A Case Series and Review of the Literature	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 e127 ~ e136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.wneu.2022.07.118	査読の有無 有
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 Hidaka Toshikazu, Ikawa Fusao, Michihata Nobuaki, Onishi Shumpei, Matsuda Shingo, Ozono Iori, Oku Shinichiro, Takayanagi Shunsaku, Fushimi Kiyohide, Yasunaga Hideo, Kurisu Kaoru, Horie Nobutaka	4. 巻 170
2. 論文標題 Perioperative Surgical Risks in Patients With Hemangioblastomas: A Retrospective Nationwide Review in Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 e21 ~ e27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2022.10.042	査読の有無 有
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 高柳 俊作、高見 浩数、田中 将太、齊藤 延人	4. 巻 50
2. 論文標題 特集 Precision Medicine-個別化医療を目指した遺伝子診断と新治療の知見 悪性脳腫瘍 血管芽腫とvon Hippel-Lindau病	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurological Surgery 脳神経外科	6. 最初と最後の頁 101 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1436204535	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28件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 高柳俊作
2. 発表標題 TodayOncoPanelなどのがん遺伝子パネル検査と脳腫瘍病理の今後の展望.
3. 学会等名 第39回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高柳俊作
2. 発表標題 von Hippel-Lindau病専門外来10年間の取り組みと今後の課題.
3. 学会等名 第27回日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高柳俊作
2. 発表標題 中枢神経系血管芽腫の VHL病症例と非VHL病症例の手術成績・戦略の違い -当院84症例による解析-
3. 学会等名 第26回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高柳俊作
2. 発表標題 神経膠腫系腫瘍の分子診断におけるTodaiOncoPanelなどがん遺伝子パネル検査の有用性.
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第80回学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高柳俊作
2. 発表標題 脳腫瘍分子診断における遺伝子パネル検査や網羅的メチル化解析の有用性と課題.
3. 学会等名 第39回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 様々な遺伝性脳腫瘍疾患に対する統合的遺伝子解析
3. 学会等名 第26回日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 遺伝性腫瘍疾患における脳腫瘍の病理と遺伝子解析
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 脳室拡大のないISEGAに対する神経内視鏡手術
3. 学会等名 第25回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 SEGAに対する内視鏡治療とeverolimusの使い分けー院内多職種連携体制の有用性ー
3. 学会等名 第79回日本脳神経外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 脳腫瘍疾患におけるToday OncoPanelとFoundation Oneの有用性と課題.
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shunsaku takayanagi.
2. 発表標題 Endoscopic surgery for pediatric intraventricular tumor without hydrocephalus: indication, surgical technique, avoidance of complication, and its prospect.
3. 学会等名 ISPNO2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 様々な脳腫瘍疾患に対するがん遺伝子パネル検査 (Today OncoPanel) の活用について
3. 学会等名 第25回日本家族性腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 脳腫瘍疾患におけるがん遺伝子パネル検査 (TodayOncoPanel) の有用性と課題 (シンポジウム)
3. 学会等名 第20回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 STによる覚醒下手術周術期の言語機能評価・訓練の有用性(シンポジウム)
3. 学会等名 第24回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 様々な脳腫瘍疾患におけるがん遺伝子パネル検査 (Todai OncoPanel) の有用性と課題.
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第78回学術総会.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunsaku Takayanagi
2. 発表標題 Targeted sequencing panel (Todai OncoPanel) for various types of brain tumors.
3. 学会等名 24th annual meeting of the society for neuro-oncology(SNO) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 がんゲノム医療時代における遺伝性脳腫瘍疾患診療-多科連携・遺伝カウンセリングの重要性
3. 学会等名 第37回日本脳腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 Precision Medicine時代における結節性硬化症の院内連携診療 分子標的薬Everolimusと手術の使い分け
3. 学会等名 第24回日本家族性腫瘍学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 様々な脳腫瘍疾患に対するがん遺伝子パネル検査 (Today OncoPanel) の初期使用経験.
3. 学会等名 第19回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 当院の中枢神経系血管芽腫75症例における手術アウトカムの解析 -VHL病症例と非VHL病症例の違い
3. 学会等名 第23回脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 がん遺伝子パネル検査を施行した成人の左側頭後頭部gliofibromaの1例.
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高柳 俊作
2. 発表標題 VHL病とゲノム医療
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第77回学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高柳 俊作 齊藤 延人
2. 発表標題 ゲノム医療の倫理的課題と今後の展望.
3. 学会等名 第42回脳神経外科コンgres総会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高柳 俊作、矢島 寛久、高見 浩数、田中 將太、池村 雅子、齊藤 延人
2. 発表標題 網羅的メチル化解析を施行した成人脳室内pilocytic astrocytomaの一例
3. 学会等名 第40回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高柳 俊作、田中 將太、高見 浩数、南部 翔平、張 香利、秋山 奈々、織田 克利、齊藤 延人.
2. 発表標題 がんゲノム医療時代のNF1診療と遺伝性腫瘍専門医の必要性 当院の最近の経験症例を踏まえてー.
3. 学会等名 日本遺伝性腫瘍学会第28回学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高柳俊作、南部翔平、遠藤岳朗、高見浩数、土屋貴裕、田中將太、齊藤延人.
2. 発表標題 脊髄血管芽腫に対する外科的治療 脳血管芽腫との手術適応の違い
3. 学会等名 第27回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高柳 俊作、田中 将太、高見 浩数、齊藤 延人
2. 発表標題 IDH 野生型低悪性度星細胞腫症例の臨床的特徴・予後と治療の変遷-51症例の解析-
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第81回学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高柳 俊作、田中 将太、高見 浩数、荒川 芳輝、成田 善孝、齊藤 延人
2. 発表標題 初発IDH野生型低悪性度神経膠腫に対するNovoTTF-100Aシステムの多施設共同第II相試験（医師主導治験）
3. 学会等名 第40回日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学医学部脳神経外科 VHL・NF外来  <a href="https://www.h.u-tokyo.ac.jp/neurosurg/gairai/VHL.html">https://www.h.u-tokyo.ac.jp/neurosurg/gairai/VHL.html</a></p>
---

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

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
---------	---------