

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07411

研究課題名（和文）高精細な病理診断と遺伝子解析を組み合わせた分類困難な脳腫瘍の層別化

研究課題名（英文）Stratification of hardly classifiable brain tumors by combining detailed pathological and genetic analysis

研究代表者

横尾 英明（Yokoo, Hideaki）

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40282389

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）：分子遺伝学的知見を踏まえて脳腫瘍の病理診断を高精細化し、個々の症例を適切に層別化していくことは時代の要請であり、基礎と臨床をブリッジする立場にある病理学の果たすべき役割は大きい。申請者らは1枚のホルマリン固定パラフィン包埋切片（FFPE）からゲノムワイド解析を行う技術を確認し、数多くの脳腫瘍の基礎研究を実施してきた。今回の申請では分類困難あるいは希少な脳腫瘍に光を当てて、膨大な累積脳腫瘍検体から該当例を抽出し、分子遺伝学的プロファイリングを加えて腫瘍概念の輪郭や生物学的特徴を明らかにした。一方、現時点では適切な層別化の困難な症例もあり、そうした症例を適切に扱う枠組みに関する概念を提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広く海外を見渡すと、地域単位、国単位、あるいは国際間で脳腫瘍研究に関する多施設連携プロジェクトが展開されており、申請者はこの研究課題を本邦を代表する脳腫瘍の研究プロジェクトに発展させる責務があると考えて取り組んできた。申請者の所属施設は半世紀にわたり脳腫瘍症例の収集を続けており、研究規模、研究戦略、研究成果は海外勢と比較しても決して引けを取らない水準にある。これをさらに推し進めて、累積希少症例の遺伝子データマイニングと高精細な病理診断を融合させ、我が国を代表する脳腫瘍の研究拠点形成を目指すという当初の目的はある程度達成できたと考える。引き続き発展を目指してまいりたい。

研究成果の概要（英文）：It is a social requirement of the current era to refine the pathological diagnosis of brain tumors based on molecular genetic findings and to appropriately stratify individual cases, and pathology that is in a position to bridge the basics and clinical practice should play a big role regarding this. The applicants have established a technique for performing genome-wide analysis from a limited size of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) sections, and have conducted basic research on divergent brain tumors. In this application, we shed light on difficult-to-classify or rare brain tumors, extracted relevant cases from a huge number of cumulative brain tumor samples, and added molecular genetic profiling to clarify the outline and biological characteristics of the tumor concept. On the other hand, at present, there are some cases where proper stratification is difficult, and we proposed the concept of a framework for properly handling such cases.

研究分野：人体病理学

キーワード：人体病理学 分子病理学 神経病理学 脳腫瘍

## 1. 研究開始当初の背景

適切な診断と正確な予後予測は病理診断に課せられた大きな使命である。しかし、脳腫瘍においては今なお診断困難な症例が少なくない。すべての脳腫瘍の患者さんが最適な治療を受けられるようにするために、病理医の努力の余地はまだ十分に残されている。最近ではホルマリン固定パラフィン包埋切片 (FFPE) から様々な分子遺伝学的解析が可能となり、FFPE として保管されている病理検体がデータの宝庫として注目を集めている。遺伝子解析技術の長足の進歩、中でも FFPE が様々な遺伝子解析に使用可能になってきた点は脳腫瘍研究にとって強力な追い風となっており、我々が積み上げてきた脳腫瘍病理学の診断ノウハウと新しいテクノロジーが組み合わせることで、大きな成果を生み出せると考えた。

## 2. 研究の目的

申請者の所属施設は半世紀にわたり脳腫瘍症例の収集を続けており、貴重な症例がアーカイブされ、現在も数多くの希少例がコンサルトされてくる。また病理診断のみならず、分子遺伝学的解析の導入も積極的に進め、独自の核酸精製技術を武器に、1枚のパラフィン切片からゲノムワイド解析が実施可能な体制を構築して、これまでに多数の良質な学術的成果を生み出してきた。これをさらに推し進めて、累積希少症例の遺伝子データマイニングと高精細な病理診断を融合させ、我が国を代表する脳腫瘍の研究拠点形成を目指した。

## 3. 研究の方法

研究期間を通じて精緻な脳腫瘍の病理診断を1例1例積み重ねて、症例データの累積化をおこなった。解析手法としては免疫組織化学、サンガーシーケンス、コピー数解析、メチル化解析、ホールゲノムシーケンスなどを適宜組み合わせた。

個別の疾患の解析に加えて、診断基準や診断スキームの提示もおこなった。

研究対象は多岐に渡るものであったので、研究課題ごとに成果の概要をまとめた。

## 4. 研究成果

胚芽異形成性神経上皮性腫瘍 (DNT) における FGFR1 チロシンキナーゼドメインのコピー数増加の証明および診断指標としての有用性を明らかにした。遺伝子コピー数解析を FFPE と multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) 法を組み合わせることで、従来は困難だった微小な遺伝子座の1コピーの増幅が証明可能であることを示した。この業績は日本脳腫瘍病理学会ポスター賞を受賞した。

Matsumura N, Nobusawa S, Ito J, Kakita A, Suzuki H, Fujii Y, Fukuda M, Iwasaki M, Nakasato N, Tominaga T, Natsume A, Mikami Y, Shinojima N, Yamazaki T, Nakazato Y, Hirato J, Yokoo H. Multiplex ligation-dependent probe amplification analysis is useful for detecting a copy number gain of the FGFR1 tyrosine kinase domain in dysembryoplastic neuroepithelial tumors. *J Neurooncol*, 143(1): 27-33, 2019.

脳腫瘍の診断が分子遺伝学的特徴を基盤とした精緻なものに突き進む一方で、施設によって、あるいは検体に起因する制約によって、最善の解析が加えられない場面も少なくない。その場合、現実には即したすり合わせが必要となる。これを体系的におこなうため、病理診断に階層性の概念を導入して対応することを提唱した。この論文は WHO 分類にも引用され、国際的にも一定の評価と共感を得ていると思われる。

Sonoda Y, Yokoo H, Tanaka S, Kinoshita M, Nakada M, Nishihara H. Practical procedures for the integrated diagnosis of astrocytic and oligodendroglial tumors. *Brain Tumor Pathol*, 36(2): 56-62, 2019.

脳腫瘍の病理診断の使命として、当該患者さんを過不足のない適切な治療に導くというものがある。悪性グリオーマの組織像をとりながら、BRAF V600E 変異、CDKN2A/B の両アリル欠失、ATRX 欠失の 3 つの遺伝子異常を有する場合、有意に予後がよいことを明らかにした。こうした情報を臨床医にフィードバックすることで適切な治療選択に資することが考えられる。この業績は日本脳腫瘍病理学会賞を受賞した。

Murakami C, Yoshida Y, Yamazaki T, Yamazaki A, Nakata S, Hokama Y, Ishiuchi S, Akimoto J, Shishido-Hara Y, Yoshimoto Y, Matsumura N, Nobusawa S, Ikota H, Yokoo H. Clinicopathological characteristics of circumscribed high-grade astrocytomas with an unusual combination of BRAF V600E, ATRX, and CDKN2A/B alternations. *Brain Tumor Pathol*, 36(3): 103-111, 2019.

胎児性脳腫瘍のうち髄芽腫の治療成績は向上が進んでいるが、2 番目に多いとされる異型奇形腫様ラプトイド腫瘍(AT/RT)は依然として予後不良である。AT/RT の原因として INI1/SMARCB1 の不活性化が指摘されており、高悪性度腫瘍のドライバー変異とみなされてきた。しかし、我々は成人の大脳半球に原発する INI1 欠失腫瘍を見出し、この腫瘍は当初は低異型度としてふるまい、徐々に悪性度を増すという特異な性質を示すことを突き止めた。

Nobusawa S, Nakata S, Nakano Y, Kawamura A, Yoshida M, Tamura A, Hasegawa D, Kosaka Y, Ito I, Watanabe R, Oishi T, Hayashi N, Ishikawa E, Sakamoto N, Okura N, Murakami C, Ichimura K, Hirato J, Yokoo H. CNS low-grade diffusely infiltrative tumors with INI1 deficiency, possessing a high propensity to progress to secondary INI1-deficient rhabdoid tumors. *Am J Surg Pathol*, 44(11): 1459-1468, 2020.

INI1 欠失がある種の脳腫瘍において二次的に発生することを見出し、その臨床病理学的特徴を明らかにした。

Nobusawa S, Nakata S, Yoshida Y, Yamazaki T, Ueki K, Amano K, Yamamoto J, Miyahara M, Sugai T, Nakazato Y, Hirato J, Yokoo H. Secondary INI1-deficient rhabdoid tumors of the central nervous system: analysis of four cases and literature review. *Virchows Arch*, 476: 763-772, 2020.

DNTに特有な遺伝子異常であるFGFR1チロシンキナーゼドメインの内部タンDEM重複を指標とし、再発および悪性化を示したDNTにおいて、一貫してFGFR1異常が保持されていることを示した。従来、DNTは悪性転化することがほとんどないと考えられていたが、DNTにおいて悪性転化が生じることを強く示唆する結果となった。

Matsumura N, Natsume A, Maeda S, Aoki K, Yamazaki T, Nobusawa S, Yokoo H. Malignant transformation of a dysembryoplastic neuroepithelial tumor verified by a shared copy number gain of the tyrosine kinase domain of FGFR1. *Brain Tumor Pathol*, 37(2): 69-75, 2020.

乏突起膠腫を特徴づけるIDH1変異、染色体1p/19q共欠失、TERT promoter変異は、乏突起膠腫の独特な形態形成(古典的乏突起膠腫の形態像)と結びついていると考えられている。本研究では、そうした遺伝子異常を保持していながら、多形黄色星細胞腫に類似の組織像を呈することがあることを示した。組織像と分子遺伝学的異常が不一致の場合、WHO分類では分子異常が優先されるという世界の大方針が示され、本例のような症例の分類学上の取扱いの難しさを提起することになった。

Murakami C, Ikota H, Nobusawa S, Nakata S, Yamazaki T, Hashiba Y, Hirato J, Yokoo H. Oligodendroglioma showing pleomorphic xanthoastrocytoma-like perivascular microlesion with IDH1, TERT promoter mutation, and 1p/19q co-deletion detected in both components. *Pathol Int*, 70(1): 40-46, 2020.

上衣腫様分化と間葉系分化を併せ持つ特異な脳腫瘍において全ゲノム解析をおこなひ、特異な遺伝子異常を見出した。

Tomomasa R, Arai Y, Kawabata-Iwakawa R, Fukuoka K, Nakano Y, Hama N, Nakata S, Suzuki N, Ishi Y, Tanaka S, Takahashi JA, Yuba Y, Shiota M, Natsume A, Kurimoto M, Shiba Y, Aoki M, Nabeshima K, Enomoto T, Inoue T, Fujimura J, Kondo A, Yao T, Okura N, Hirose T, Sasaki A, Nishiyama M, Ichimura K, Shibata T, Hirato J, Yokoo H, Nobusawa S. Ependymoma-like tumor with mesenchymal differentiation harboring C11orf95-NCOA1/2 or -RELA fusion: A hitherto unclassified tumor related to ependymoma. *Brain Pathol*. 31(3): e12943, 2021.

頭蓋咽頭腫は病理学的にエナメル上皮腫と乳頭型に区別され、それぞれに特有な分子遺伝学的異常が判明しているが、その臨床的な意義はよくわかっていなかった。今回の検討で、糖代謝と病理学的特徴の相関が明らかになり、機能画像を用いることで2つの腫瘍型を区別できることを明らかにした。

Mukada N, Tosaka M, Matsumura N, Yamaguchi R, Aihara M, Isoda K, Higuchi T, Tsushima Y, Yokoo H, Yoshimoto Y. Subtype-dependent difference of glucose transporter 1 and hexokinase II expression in craniopharyngioma: an

immunohistochemical study. *Sci Rep.* 11(1): 126, 2021.

松果体部に発生する線維形成と粘液沈着を特徴とする低悪性度腫瘍が近年海外から報告されたが、我々の症例データベースを探索して同様な病変が登録されていることを見出し、我が国最初の同腫瘍を報告した。

Matsumura N, Goda N, Yashige K, Kitagawa M, Yamazaki T, Nobusawa S, Yokoo H. Desmoplastic myxoid tumor, SMARCB1-mutant: a new variant of SMARCB1-deficient tumor of the central nervous system preferentially arising in the pineal region. *Virchows Arch*, 479(4): 835-839, 2021.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10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 Nobusawa S, Nakata S, Nakano Y, Kawamura A, Yoshida M, Tamura A, Hasegawa D, Kosaka Y, Ito I, Watanabe R, Oishi T, Hayashi N, Ishikawa E, Sakamoto N, Okura N, Murakami C, Ichimura K, Hirato J, Yokoo H.	4. 巻 44
2. 論文標題 CNS low-grade diffusely infiltrative tumors with INI1 deficiency, possessing a high propensity to progress to secondary INI1-deficient rhabdoid tumors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol	6. 最初と最後の頁 1459-1468
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000001520.	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 Nobusawa S, Nakata S, Yoshida Y, Yamazaki T, Ueki K, Amano K, Yamamoto J, Miyahara M, Sugai T, Nakazato Y, Hirato J, Yokoo H.	4. 巻 476
2. 論文標題 Secondary INI1-deficient rhabdoid tumors of the central nervous system: analysis of four cases and literature review.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virchows Arch	6. 最初と最後の頁 763-772
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00428-019-02686-7.	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 Murakami C, Yoshida Y, Yamazaki T, Yamazaki A, Nakata S, Hokama Y, Ishiuchi S, Akimoto J, Shishido-Hara Y, Yoshimoto Y, Matsumura N, Nobusawa S, Ikota H, Yokoo H.	4. 巻 36
2. 論文標題 Clinicopathological characteristics of circumscribed high-grade astrocytomas with an unusual combination of BRAF V600E, ATRX, and CDKN2A/B alternations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathol.	6. 最初と最後の頁 103-111
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10014-019-00344-z.	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 Sonoda Yukihiro, The committee for molecular diagnosis of the Japan Society of Brain Tumor Pathology, Yokoo Hideaki, Tanaka Shinya, Kinoshita Manabu, Nakada Mitsutoshi, Nishihara Hiroshi	4. 巻 36
2. 論文標題 Practical procedures for the integrated diagnosis of astrocytic and oligodendroglial tumors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 56 ~ 62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10014-019-00337-y	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 Matsumura Nozomi, Nobusawa Sumihito, Ito Junko, Kakita Akiyoshi, Suzuki Hiroyoshi, Fujii Yukihiko, Fukuda Masafumi, Iwasaki Masaki, Nakasato Nobukazu, Tominaga Teiji, Natsume Atsushi, Mikami Yoshiki, Shinojima Naoki, Yamazaki Tatsuya, Nakazato Yoichi, Hirato Junko, Yokoo Hideaki	4. 巻 143
2. 論文標題 Multiplex ligation-dependent probe amplification analysis is useful for detecting a copy number gain of the FGFR1 tyrosine kinase domain in dysembryoplastic neuroepithelial tumors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neuro-Oncology	6. 最初と最後の頁 27 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11060-019-03138-7	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 Matsumura Nozomi, Natsume Atsushi, Maeda Sachi, Aoki Kosuke, Yamazaki Tatsuya, Nobusawa Sumihito, Yokoo Hideaki	4. 巻 37
2. 論文標題 Malignant transformation of a dysembryoplastic neuroepithelial tumor verified by a shared copy number gain of the tyrosine kinase domain of FGFR1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 69 ~ 75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10014-020-00361-3	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 Murakami Chiaki, Ikota Hayato, Nobusawa Sumihito, Nakata Satoshi, Yamazaki Tatsuya, Hashiba Yasuhiro, Hirato Junko, Yokoo Hideaki	4. 巻 70
2. 論文標題 Oligodendroglioma showing pleomorphic xanthoastrocytoma like perivascular microlesion: With<i>IDH1, TERT</i>promoter mutation and 1p/19q codeletion detected in both components	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 40 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12880	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 Tomomasa Ran, Arai Yasuhito, Kawabata Iwakawa Reika,	4. 巻 31
2. 論文標題 Ependymoma like tumor with mesenchymal differentiation harboring <i>C11orf95</i> / <i>NCOA1</i> or <i>REL1</i> fusion: A hitherto unclassified tumor related to ependymoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Pathology	6. 最初と最後の頁 e12943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bpa.12943	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 Mukada Naoto, Tosaka Masahiko, Matsumura Nozomi, Yamaguchi Rei, Aihara Masanori, Isoda Koji, Higuchi Tetsuya, Tsushima Yoshito, Yokoo Hideaki, Yoshimoto Yuhei	4. 巻 11
2. 論文標題 Subtype-dependent difference of glucose transporter 1 and hexokinase II expression in craniopharyngioma: an immunohistochemical study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80259-4	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 Matsumura Nozomi, Goda Naoki, Yashige Konomi, Kitagawa Masashi, Yamazaki Tatsuya, Nobusawa Sumihito, Yokoo Hideaki	4. 巻 479
2. 論文標題 Desmoplastic myxoid tumor, SMARCB1-mutant: a new variant of SMARCB1-deficient tumor of the central nervous system preferentially arising in the pineal region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 835 ~ 839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-020-02978-3	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	信澤 純人  (Nobusawa Sumihito)  (80635318)	群馬大学・大学院医学系研究科・准教授   (12301)	
研究分担者	松村 望  (Matsumura Nozomi)  (20729511)	群馬大学・大学院医学系研究科・講師   (12301)	
研究分担者	伊古田 勇人  (Ikota Hayato)  (90420116)	群馬大学・医学部附属病院・准教授   (12301)	



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