

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号： 12601  
研究種目： 奨励研究  
研究期間： 2020～2020  
課題番号： 20H01116  
研究課題名 WHO脳腫瘍分類における神経膠腫の分子診断に対する遺伝子解析技術の確立

## 研究代表者

松浦 令子 (MATSUURA, REIKO)

東京大学・医学部附属病院・技術補佐員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：2016年改訂脳腫瘍WHO分類では、神経膠腫の病理診断にIDH1/2遺伝子変異・染色体1p/19q共欠失等の遺伝子解析による分子診断が必須となった。しかし、解析の検査方法と解釈については一定の見解が得られていない。神経膠腫の分子診断に重要な遺伝子変異解析を、MLPA法による解析と従来のsanger法やMicrosatellite法との比較検証を行った。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性脳腫瘍である神経膠腫はWHO分類で主にGrade 1～4に分かれ、Grade 1を膠芽腫と呼ぶ。Grade 1～4の低悪性度神経膠腫において必須な分子診断の検査法に関して統一した見解はなく、本研究にて複数の検査法を比較検討することで、分子診断の確立に寄与すると期待される。

研究分野： 悪性脳腫瘍

キーワード： 神経膠腫 分子診断 MLPA法

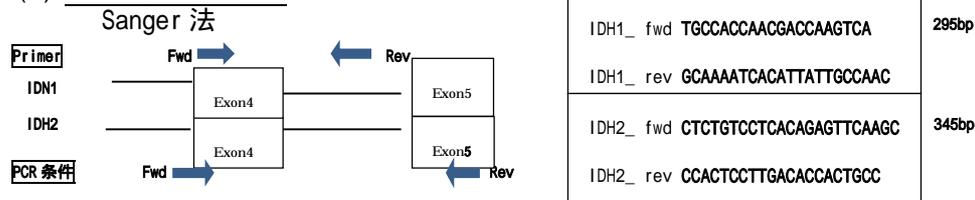
1. 研究の目的

神経膠腫は悪性脳腫瘍の中で最も頻度が高く難治性である。治療や予後予測の為、低悪性度神経膠腫では分子診断が脳腫瘍 WHO 分類で病理診断に必須となったが、解析の検査方法と解釈を確立するとともに、次回 WHO 分類第5版で追加される予定の分子マーカーについて検証する。

2. 研究成果

神経膠腫の病理診断に IDH 遺伝子変異・染色体 1p/19q 共欠失等の解析が必須となったことから、従来の Sanger 法、Microsatellite 法に加え MLPA 法による解析を行い、低悪性度神経膠腫においてそれらの整合性を検討した。また、脳腫瘍における分子診断を検証している cIMPACT<sup>2</sup> は、組織学的に WHO grade ~ と診断される IDH 野生型低悪性度神経膠腫のうち、IDH 野生型膠芽腫に似た臨床経過をたどる症例があることを示唆しており Tert プロモーター領域の遺伝子変異のあるものについて MLPA kit P105 にて後方視的解析を行った。検体を解析に使用する事については、東京大学医学部の倫理委員会において「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」という研究課題として倫理審査済である。

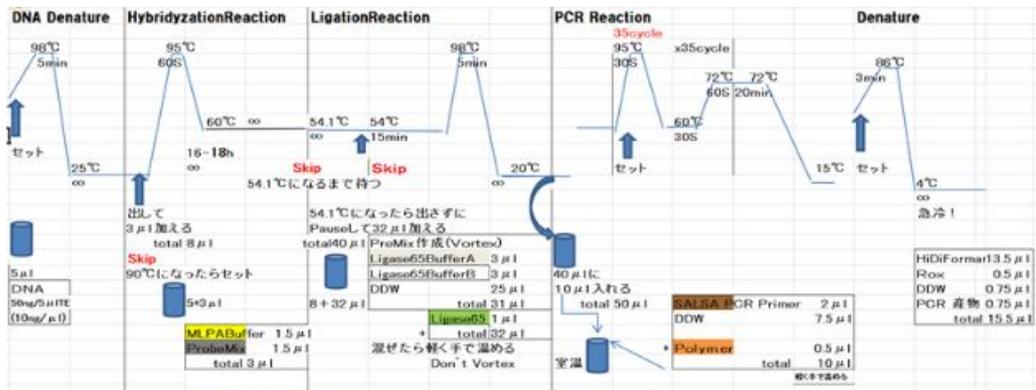
(1) IDH 変異の解析法



IDH1 は KOD FX Neo [KFX-201] (TOYOBO) 94/2min-[98/10s-59/30s-68/30s]x35-68/60s -4/

IDH2 は AmpliTaqGold with Buffer [N808-0240] (Applied Biosystems) 95/5min-[95/30s-55/30s-72/30s]x37-72/7min -4/

MLPA 法 (Kit P088)



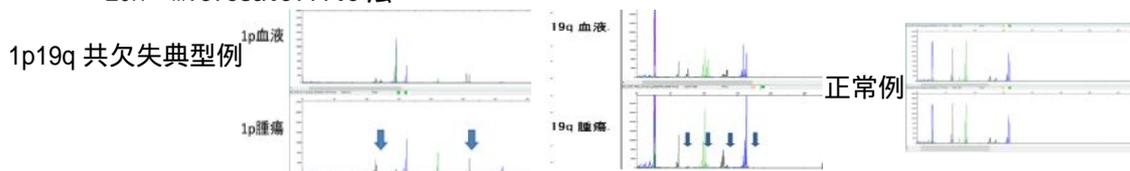
MLPA 反応後、生成物を SeqStudio GeneticAnalyzer (ThermoFisher) にて泳動し得られたデータは、MRC Holland が無償提供している MLPA 専用解析ソフトの Coffalyser.net で解析した。

IDH 変異解析を Sanger 法と MLPA 法両方行った 26 症例の結果

病理診断	IDH1-R132H Sanger 法	IDH1-R132H MLPA 法
Anaplastic Astrocytoma	4/10	4/10
Diffuse Astrocytoma	1/3	1/3
(Anaplastic) Oligodendroglioma	12/13	12/13

(2) 染色体 1p/19q 共欠失の解析法

LOH Microsatellite 法



同じ色の波形が 1 つの Microsatellite マーカーに対する PCR 増幅を示す。ピークは二峰性でヘテロ接合性を示す。腫瘍に変異が無い場合、血液と腫瘍でアレルは相似であるが、腫瘍のアレル 1 とアレル 2 の割合とが血液のアレル 1 とアレル 2 の割合と比べて 0.67 以下、1.35 以上の場合に欠失と判断する。



主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kitagawa Yosuke, Tanaka Shota, Kamiya Mako, Kuriki Yugo, Yamamoto Kyoko, Shimizu Takenori, Nejo Takahide, Hana Taijun, Matsuura Reiko, Koike Tsukasa, Yamazawa Erika, Kushihara Yoshihiro, Takahashi Satoshi, Nomura Masashi, Takami Hirokazu, Takayanagi Shunsaku, Mukasa Akitake, Urano Yasuteru, Saito Nobuhito	4. 巻 -
2. 論文標題 A Novel Topical Fluorescent Probe for Detection of Glioblastoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1078-0432.CCR-20-4518	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〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
田中 将太	(Tanaka Shota)