

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09375

研究課題名（和文）中枢神経系悪性リンパ腫臨床試験における網羅的遺伝子解析による予後及び予測因子解析

研究課題名（英文）Comprehensive molecular and genetic analysis for prognostic and predictive factors in clinical trial for primary central nervous system lymphoma

研究代表者

塩川 芳昭（Shiokawa, Yoshiaki）

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：20245450

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では中枢神経系原発悪性リンパ腫（PCNSL）における予後因子、治療反応性規定因子の検出のため、PCNSLに対して大量メトトレキサート療法（HD-MTX）+全脳照射とHD-MTX+テモゾロミド（TMZ）併用放射線治療+TMZ維持療法との効果を比較したJCOG1114C第Ⅲ相臨床試験に登録された患者集団において、遺伝子解析を行う。特にMGMT遺伝子プロモーターメチル化解析では、MGMT高メチル群と低メチル群でOSに有意差はなく、MGMT高メチル群、低メチル群のいずれにおいても、TMZ追加によるOS延長は認められず、MGMTメチル化度はTMZの感受性規定因子とは検証されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子遺伝学的予後因子が依然として十分に明らかになっていない中枢神経系原発悪性リンパ腫（PCNSL）に対し、治療方法や患者背景が均一である第Ⅲ相臨床試験の患者集団で、MGMT遺伝子プロモーター領域のメチル化が予後因子でなく、またTMZの治療効果予測因子でもなかったことが示された。原発性悪性脳腫瘍の主要な疾患である膠芽腫では、MGMTメチル化状態はTMZの予測因子であることから、PCNSLが同じ悪性脳腫瘍としても膠芽腫とは異なる病態や治療反応性をもつ疾患であることが明らかとなり、またTMZのPCNSLでの有用性を問うJCOG1114C試験の結果の解釈に重要な科学的裏付けを付加することに寄与した。

研究成果の概要（英文）：This study aims at identifying molecular prognostic factors among patients enrolled in the JCOG1114C phase III clinical trial. In this year, we performed MGMT promoter methylation analysis in order to investigate its potential role as a determinant for treatment effect of temozolomide (TMZ). As a result, MGMT promoter methylation was not a prognostic factor among all analyzed patients in this study. Moreover, no OS benefit of temozolomide was observed in either MGMT hyper/hypomethylated groups. These results indicate that MGMT promoter methylation was not predictive nor prognostic among patients treated in the JCOG1114C trial.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：中枢神経系原発悪性リンパ腫 臨床試験 MGMT JCOG1114C 附随研究 予後因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

原発性悪性脳腫瘍の中で2番目に高頻度である中枢神経系原発悪性リンパ腫(primary central nervous system lymphoma; PCNSL)は、依然予後不良な致死性疾患であり、治療の有効性を予測する因子は未だ明確に解明されていない。PCNSLの予後予測バイオマーカーのうち、遺伝子発現や遺伝子変異などの分子遺伝学的予後因子が複数報告されている。これまでに臨床試験対象集団で検証された分子遺伝学的予後不良因子として、BCL6の高発現があるが、海外からの報告であり日本人を対象とした検証はなされていない。また、BCL6高発現は予後良好性との相関を指摘する報告もあり、結果が一致していない。後方視的研究では、cell-of-origin(COO)分類、MYD88変異、CD79B変異等が予後因子として報告されたが、臨床試験の均一な対象集団での検証は未だなされていない。

近年PCNSLの網羅的遺伝子解析の研究として、遺伝子変異解析ならびに遺伝子発現解析の結果が複数報告された。これらの結果から、PCNSLの遺伝学的異常の全体像が明らかになり、HLA-C変異や染色体座6p21欠失などの遺伝子異常と予後との相関が指摘された。しかしこれらの報告では、患者背景や治療内容は均一でなく、予後因子の評価という観点からは複数の交絡因子の存在が懸念される。また、PCNSLの治療において標準治療薬であるメトトレキサート(methotrexate; MTX)感受性規定因子として、reduced-folate carrier(RFC)、MRP family 蛋白やlung resistance protein(LRP)、代謝拮抗薬であるMTXの標的分子のdehydrofolate reductase(DHFR)、ポリグルタミル化などが後方視的研究で報告されてきた。同様に原発性悪性脳腫瘍の代表疾患である膠芽腫(glioblastoma; GBM)における標準治療薬であり、血液脳関門透過性が良好なアルキル化系抗がん薬のテモゾロミド(temozolomide; TMZ)は、脳実質内に浸潤性に進展するPCNSLに対しても有効性が期待されている。PCNSLにおけるTMZ感受性規定因子については、O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase(MGMT)遺伝子プロモーター領域メチル化との関連が、PCNSLにおける複数の後方視的研究で検討されている。これらの薬剤感受性規定因子は国内外から複数の報告があるが、いずれも後方視的研究であり、患者背景や治療内容が均一な集団では検証されていない。

2. 研究の目的

JCOG1114C「初発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する照射前大量メトトレキサート療法+放射線治療と照射前大量メトトレキサート療法+テモゾロミド併用放射線治療+テモゾロミド維持療法とのランダム化比較試験」の登録患者において、以下を探索的に検討する。

目的1: 中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)の予後予測バイオマーカーの探索

目的2: メトトレキサート(methotrexate: MTX)感受性規定因子の検討

目的3: テモゾロミド(TMZ)感受性規定因子の検討

これらの目的の中で、JCOG1114C本体試験の結果解釈にも影響が予想される、目的3、TMZについて解析を行った。

3. 研究の方法

杏林大学医学部 脳神経外科において、凍結腫瘍組織またはホルマリン固定パラフィン包埋薄切標本からDNAを抽出後、MGMTプロモーター領域メチル化解析を実施。JCOG1114C試験への参加施設より、手術で摘出または生検で採取された凍結組織3~7mm角1個、またはホルマリン固定パラフィン包埋FFPE薄切標本を5μm厚で5~10枚収集し、DNeasy Blood & Tissue KitまたはQIAamp DNA FFPE Tissue Kit(Qiagen)にてDNA抽出を行った。

目的1においては、抽出されたDNAを用いて、リンパ腫に高頻度で検出される遺伝子群を中心とした遺伝子変異パネル検査を構築し、変異解析を行う。各遺伝子変異の有無と再発や生存期間などの予後との関連を比較解析することで、PCNSLにおける有意な予後予測バイオマーカーを探索する。

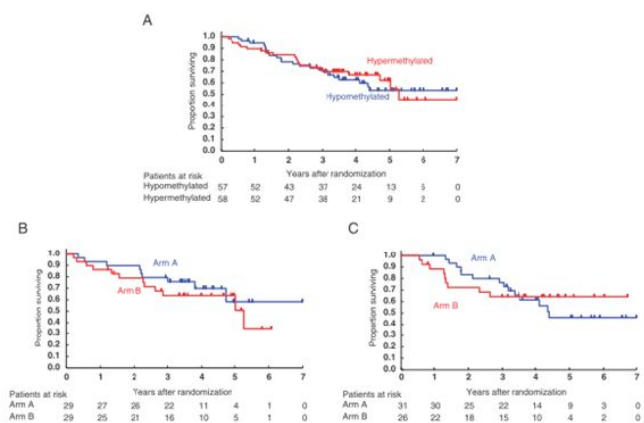
目的2に対しては、試験治療のなかでMTXの奏効や無増悪生存期間等の関連をもつ遺伝子変異や臨床因子を探索する。特にポリグルタミル化が過去の後方視的解析でMTX感受性に注目されており、腫瘍の免疫組織化学染色により、ポリグルタミル化度とMTX感受性の検討を行う。

目的3は、本試験における試験治療薬であるTMZに対する直接的感受性規定因子と考えられているMGMTのメチル化解析が中心であり、抽出されたDNAでpyrosequence法を用いて、MGMTプロモーター領域のメチル化(%)を評価し、メチル化の有無と臨床的アウトカムとの解析に用いた。

4. 研究成果

本研究期間中に、参加各施設で本研究に関する倫理審査を行い、全施設で承認の上、JCOG1114C試験登録患者から腫瘍標本を収集した。解析としては、JCOG1114C試験の試験結果に直接関連がある可能性が高い、目的3のMGMT遺伝子プロモーター領域メチル化解析をまず実施した。

JCOG1114C 試験に一次登録された 134 例中、検体不足等で本研究の対象から除外された患者以外の 115 例（86%）で MGMT メチル化解析結果を得ることができた。115 例のうち 107 例（93.0%）は MGMT プロモーターの >10% のメチル化を有しており、中央値は 19.5% であった。MGMT プロモーターのメチル化 >19.5% の患者を高メチル群、19.5% の患者を低メチル群とした。高メチル群/低メチル群の患者の割合は JCOG1114C 試験の A 群（HD-MTX+全脳照射群）と B 群（HD-MTX+TMZ 併用放射線治療+TMZ 維持療法群）で明らかな差はなかった。全患者において MGMT 高メチル群と MGMT 低メチル群と比較して OS の優位性は示されず、MGMT 高メチル群、MGMT 低メチル群のいずれにおいても、B 群における OS のベネフィットは認められなかった。以上より、本試験において MGMT 遺伝子プロモーター領域のメチル化は予後因子ではないこと、また TMZ の治療効果予測因子でもないことが示された（図 1）。



(図 1 (A) 全患者における MGMT 高メチル群と低メチル群の OS の Kaplan-Meier 曲線。(B) MGMT 高メチル群の OS の Kaplan-Meier 曲線。(C) MGMT 低メチル群の OS の Kaplan-Meier 曲線)

当該研究成果は以下の文献にて発表された。

Mishima, Kazuhiko, Ryo Nishikawa, Yoshitaka Narita, Junki Mizusawa, Minako Sumi, Tomoyuki Koga, Nobuyoshi Sasaki, Manabu Kinoshita, Motoo Nagane, et al. “Randomized Phase III Study of High-Dose Methotrexate and Whole-Brain Radiotherapy with/without Temozolomide for Newly Diagnosed Primary CNS Lymphoma: JCOG1114C.” *Neuro Oncol* 25(4):687-698, 2023. 2022 Nov 5;noac246. doi: 10.1093/neuonc/noac246.

5. 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 Mishima M, Nishikawa R, Narita Y, Mizusawa J, Sumi M, Kinoshita M, Nagane M, Arakawa Y, Yoshimoto K, Shibahara I, Shinojima N, Asano K, Tsurubuchi T, Sasaki H, Asai A, Sasayama T, Momii Y, Sasaki A, Katayama H, Fukuda H | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Randomized phase III study of high-dose methotrexate and whole brain radiotherapy with or without concomitant and adjuvant temozolomide in patients with newly diagnosed primary central nervous system lymphoma: JCOG1114C | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Neuro-Oncology | 6. 最初と最後の頁 687-698 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/neuonc/noac246 | 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7件（うち招待講演 5件／うち国際学会 4件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Nagane M |
| 2. 発表標題 Molecular pathogenesis and treatment of primary central nervous system lymphoma: Evidence and perspectives |
| 3. 学会等名 The 19th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nagane M |
| 2. 発表標題 JCOG1114C randomized phase III trial for newly-diagnosed PCNSL comparing HD-MTX + WBRT vs. HD-MTX + WBRT/TMZ followed by adjuvant TMZ |
| 3. 学会等名 2020 International PCNSL Collaborative Group Virtual Meeting（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Motoo Nagane, Nobuyoshi Sasaki, Keiichi Kobayashi, Kuniaki Saito, Daisuke Shimada, Yoshie Matsumoto, Shohei Iijima, Yuki Yamagishi, Saki Shimizu, Yuta Sasaki, Nobuyuki Takayama, Yoshiaki Shiokawa |
| 2. 発表標題 Combined rituximab, methotrexate, procarbazine, vincristine, and cytarabine (R-MPV-A) treatment for patients with relapsed primary CNS lymphoma |
| 3. 学会等名 25th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 永根基雄 |
| 2. 発表標題 中枢神経系原発悪性リンパ腫の病態と治療 エビデンスと今後の展望 |
| 3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 永根基雄 |
| 2. 発表標題 中枢神経系原発悪性リンパ腫治療の課題と展望 |
| 3. 学会等名 第40回 日本脳腫瘍学会 学術集会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 永根基雄 |
| 2. 発表標題 中枢神経系原発悪性リンパ腫の病態と治療開発：最近の動向と展望 |
| 3. 学会等名 第84回日本血液学会学術総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Motoo Nagane |
| 2. 発表標題 PCNSL - Current standard of care and novel therapeutic development |
| 3. 学会等名 World Federation of Neuro Oncology 2022（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計2件

| | |
|---------------------------|------------------|
| 1. 著者名 永根基雄 | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 金芳堂 | 5. 総ページ数 2770 |
| 3. 書名 脳神経外科学II [改訂13版] | |

| | |
|-------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 永根基雄 | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 南江堂 | 5. 総ページ数 395 |
| 3. 書名 悪性リンパ腫治療マニュアル(改訂第5版) | |

〔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 | 永根 基雄 (Nagane Motoo) (60327468) | 杏林大学・医学部・教授 (32610) | |
| 研究分担者 | 市村 幸一 (Ichimura Koichi) (40231146) | 国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長 (82606) | |

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 |
|---------|---------|