

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 20日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500319

研究課題名（和文） INI1 蛋白不活性化の有無からみた中枢神経系ラブドイド腫瘍の臨床病理学的研究

研究課題名（英文） Clinicopathological study of central nervous system rhabdoid tumors with or without INI1 protein expression

研究代表者

平戸 純子 (HIRATO JUNKO)

群馬大学・医学部・准教授

研究者番号：60208832

研究成果の概要（和文）：中枢神経系ラブドイド腫瘍(CNS RT)を INI1 蛋白の陰性化の有無により分類すると、陰性群はすべての症例が非定型奇形腫様ラブドイド腫瘍(AT/RT)に相当していた。また、INI1 陽性のグリオーマの要素と INI1 陰性のラブドイド腫瘍の要素が混合した腫瘍も見出された。陽性群では epithelioid/rhabdoid cell を伴う高悪性度グリオーマと INI1 陽性の AT/RT とみなされる腫瘍が見出された。

研究成果の概要（英文）：Central nervous system rhabdoid tumors(CNS RTs) were divided into INI1 protein-negative and -positive groups. All INI1-negative RTs were consistent with atypical teratoid rhabdoid tumor(AT/RT) in the histopathological features. Moreover, there were a few cases with combined tumors composed of INI1-positive glioma and INI1-negative rhabdoid tumors. In the INI1-positive RTs, high-grade gliomas with epithelioid/rhabdoid cells were identified, and the presence of INI1-positive AT/RT was possibly considered.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：脳腫瘍病理学

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：ラブドイド腫瘍、INI1 蛋白、ラブドイド細胞、グリオーマ、epithelioid/rhabdoid cell、composite rhabdoid tumor、array CGH

## 1. 研究開始当初の背景

(1) AT/RT の概念が提唱された後、その悪性度の高さから、ラブドイド細胞が注目され、従来知られてきた腫瘍型にラブドイド細胞からなる要素が出現する composite rhabdoid tumor (CRT) が報告された。

(2) AT/RT は INI1 遺伝子の不活性化が特徴であり、これを反映した INI1 蛋白陰性化が免疫組織化学的に検索可能であり、診断に有用とされた。一方 CRT では INI 蛋白の陰性化は認められず、INI1 蛋白の発現の有無で両者の鑑別が可能とされた。

(3) 研究代表者、連携研究者はコンサルテーター

ション等で、CNS RT 症例の診断を行うため INI1 免疫染色を行ってきたが、INI1 蛋白陽性 RT 群は一様でなく、単に CRT と一つの概念に集約できないと感じていた。

- (4) 陽性群の中には非常に悪性度の高い腫瘍グループがあり、AT/RT との相違点や臨床病理学的な特徴を明らかに必要があると考えられた。

## 2. 研究の目的

- (1) ラブドイド細胞を伴う中枢神経系腫瘍を INI1 蛋白が陰性化した群と INI1 蛋白陽性群に分け、それぞれの臨床病理学的な特徴を明らかにする。
- (2) INI1 蛋白陰性化が診断に必須となっている AT/RT との相違を検討する。
- (3) waste basket となっている陽性群を分類し、それぞれの臨床病理学的特徴を明らかにする。

## 3. 研究の方法

- (1) 症例の収集：当院および関連病院症例、脳腫瘍レファレンスセンターやの日本病理学会コンサルテーションシステムを通して、あるいは研究代表者、連携研修者が個人的にコンサルテーションを依頼された症例で、研究に使用することを許可された 33 症例を対象とした。
- (2) INI1 免疫染色を行い、陰性群と陽性群に分けて、それぞれの臨床的事項、組織学的特徴や免疫組織学的マーカーの発現パターンを検索し、その特徴を検討した。
- (3) INI1 蛋白陰性 RT 要素と陽性のグリオーマ要素が混在する症例が 2 例認められ、検索を許された 1 例についてパラフィン包埋切片から DNA を抽出し array CGH 法にて 2 つの腫瘍要素の分子遺伝学的な異常を検索した。
- (4) INI1 陽性群の中に 2010 年に報告された rhabdoid glioblastoma (GBM) または epithelioid GBM とみなされる腫瘍が含まれているため、これらに該当するか否かを検討した。
- (5) Epithelioid GBM に相当する腫瘍で、通常の浸潤性星細胞腫の要素を含む 1 症例について array CGH 法によって組織像の異なる 3 種類の要素の分子遺伝学的な異常を検索した。

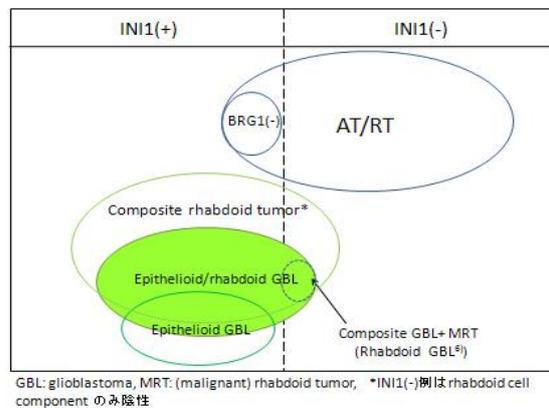
## 4. 研究成果

- (1) 検索した 33 例中 INI1 蛋白陰性群は 17 例、陽性群は 14 例、INI1 陰性の RT 要素と INI1 陽性のグリオーマ要素、high grade glioma、ependymoma それぞれが混合した腫瘍 2 例が見出された。
- (2) INI1 蛋白陰性群 17 症例の特徴について
  - ① 発生年齢は在胎時～39 歳までで 65% は 3 歳未満に発病していた。男女比は 2 : 1 程度で男性に多い。
  - ② 組織要素は 70% に髄芽腫/PNET 様の未分化な要素が認められ、年齢が比較的高い症例に間葉系要素が出現する傾向が見られた。
  - ③ 免疫組織化学的には多様なマーカーの発現が見られ、vimentin, EMA, SMA が高頻度に陽性となった。また、keratin, neurofilament 蛋白、GFAP が多くの症例で陽性であり、これらは AT/RT に合致する所見であった。
  - ④ 1 例では未熟腺管や軟骨様組織、扁平上皮巢、ependymoblastic rosette を含む PNET 様要素など immature teratoma に類似した腫瘍が認められた。この腫瘍は  $\alpha$  - fetoprotein 陽性の要素があり、AT/RT と胚細胞腫瘍の関連性を示唆する稀な症例と考えられた。
- (3) (1) に記載した 2 例の混合型 RT は、22 歳と 24 歳の若年成人に発生しており、RT 要素は AT/RT と同様の形態、マーカー発現を示していた。このうちの INI1 蛋白陽性 ependymoma と陰性 RT 要素の混合した腫瘍の array CGH 法による検索では、両方の要素に同じ染色体の異常が認められ、細胞形態や INI1 蛋白の発現は異なるが同一のクローンと考えられた。また、両者に 22q の LOH が推定されることから、FISH による欠失の確認と遺伝子変異について今後検索する予定である。現在まで ganglioglioma や pleomorphic xanthoastrocytoma で 2 次的に INI1 遺伝子の不活性化が起こり AT/RT が発生したとされる例が 4 例報告されているが、確認できれば、ependymoma では初めての症例になると考えられる。
- (4) INI1 蛋白陽性群は病理組織学的に 3 群に分けられた。9 例は epithelioid GBM が疑われ、1 例は rhabdoid meningioma、他の 4 例は INI1 陽性 AT/RT の可能性が考えられた。
  - ① Kleinschmidt-DeMasters B. K ら (Am J Surg Pathol 2010, 34:341-354) が定義した epithelioid GBL に 9 例が一致していた。発生年齢は 3 歳から 40 歳までで平均 19.6 歳、中央値は 18 歳で、AT/RT よりも高い年齢で

- 発生していた。発生部位は側頭葉 4 例、前頭葉 2 例、視床 2 例、後頭葉 1 例で、後頭蓋窩発生例は見られなかった。男女比は 4:5 で性差は見られない。術後の臨床経過が分かった 4 症例では早期に髄液播種を起し、20 日から 4 カ月で死に至っている。
- ② 組織学的には、epithelioid GBL で出現する細胞は AT/RT のラブドイド細胞に類似しているが、核は圧排されて三日月型や弯曲した桿状の核で封入体は中央部に好塩基性や顆粒状の構造を有し、辺縁部が硝子様であり、ラブドイド細胞とやや異なっていた。リング状の核の存在も AT/RT と異なる点であった。また、症例の一部には AT/RT のラブドイド細胞とほとんど鑑別ができない細胞も出現していた。以上の所見からこの細胞は AT/RT に出現するラブドイド細胞と区別して epithelioid/rhabdoid cell (E/R 細胞) とすべき細胞と考えられた。
- ③ 9 例中 6 例に通常のグリオーマの要素が認められた。グリオーマの組織型は、びまん性星細胞腫 4 例、退形成性乏突起星細胞腫細胞腫 1 例、膠芽腫 1 例であった。
- ④ これらの腫瘍における E/R 細胞の特徴は GFAP 発現の低下と結合性の低下、高い分裂能である。
- ⑤ びまん性星細胞腫 要素を有する症例 1 例について、E/R 細胞からなる要素と星細胞腫要素両者から DNA を抽出し array CGH 法で検索したところ、E/R 細胞要素で 3 番染色体長腕の一部の欠失が存在したことを除いて、両者は同じ染色体異常を示したことから、同一のクローンから発生し、E/R 細胞要素の発生には欠失したアレルに存在する遺伝子の不活性化が関与しているものと推測された。
- ⑥ INI1 蛋白陽性 AT/RT と推測された症例のうち 3 例は 1 カ月～2 歳の低年齢で、他の 1 例が 21 歳ですべて男性であった。臨床像、組織像、各種マーカー発現パターンも AT/RT と類似していた。近年、Hasselblatt ら (Am J Surg Pathol 2011, 35: 933-935) が INI1 陰性化が見られず INI1 遺伝子と同様 SWI/SNF chromatin remodeling complex に含まれている BRG-1 遺伝子の不活性化による AT/RT が存在することを報告したことから、小児 3 例について BRG-1 の免疫染色を行ったが、いずれも陰性化は見られず、分子遺伝学的な確

診断が得られなかった。確定させるには今後 SWI/SNF chromatin remodeling complex に関連する遺伝子をすべて検索する必要があると考えられる。

- (5) AT/RT については INI1 免疫染色が普及したこともあり、認知されるようになった現在では、INI1 陽性 AT/RT の診断が問題となっている。BRG-1 以外の新たな責任遺伝子を解明する必要がある。
- (6) CNS RT については、AT/RT の概念は確立されているが、その周辺部にある腫瘍は、研究者によって概念がやや異なっており、全体を見渡して整理する必要がある。研究代表者は CNS RT の相互の関連性を以下の図のように整理できると考えている。



- (7) 今後、array CGH 法で解析した 2 症例のさらに詳しい分子遺伝学的検索を進め、この相関図の妥当性を検証し、事実と相違する点は修正し、新たな分類を提唱したいと考えている。また、分子遺伝学的な異常のタイプと臨床病理学的な特徴を考慮した分類が、これらの悪性度が高い稀な腫瘍群の診断のみならず、新たな治療法の開発に繋がるものと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① Yamazaki F, Osumi T, Kosaki K, Mikami S, Hirato J, Shimada H. large congenital melanocytic nevi with atypical teratoid/rhabdoid tumor. *Pediatr Blood Cancer*. 2013. doi: 10.1002/pbc.24515. [Epub ahead of print]. 査読有
- ② Fu YJ, Taniguchi Y, Takeuchi S, Shiga A, Okamoto K, Hirato J, Nobusawa S,

- Nakazato Y, Kakita A, Takahashi H. Cerebral astroblastoma in an adult: An immunohistochemical, ultrastructural and genetic study. *Neuropathology*. 2012 doi: 10.1111/j.1440-1789.2012.01351.x. [Epub ahead of print] 査読有
- ③ Nobusawa S, Yokoo H, Hirato J, Kakita A, Takahashi H, Sugino S, Tasaki K, Itoh H, Hatori T, Shimoyama Y, Nakazawa A, Nishizawa S, Kishimoto H, Matsuoka K, Nakayama M, Okura N, Nakazato Y. Analysis of chromosome 19q13.42 amplification in embryonal brain tumors with ependymoblastic multilayered rosettes. *Brain Pathol*, 22: 689-697, 2012 doi: 10.1111/j.1750-3639.2012.00574.x. 査読有
- ④ 平戸純子. Rhabdoid feature を示す神経上皮性腫瘍. *病理と臨床* 30 : 422-428, 2012 査読無
- ⑤ Arai H, Ikota H, Sugawara K, Nobusawa S, Hirato J, Nakazato Y. Nestin expression in brain tumors: its utility for pathological diagnosis and correlation with the prognosis of high-grade gliomas. *Brain Tumor Pathol* 29: 160-7, 2012 doi: 10.1007/s10014-012-0081-5. 査読有
- ⑥ Yamamoto J, Takahashi M, Nakano Y, Soejima Y, Saito T, Akiba D, Hirato J, Nakazato Y, Nishizawa S. Rapid progression of rhabdoid components of a composite high-grade glioma and rhabdoid tumor in the occipital lobe of an adult. *Brain Tumor Pathol* 29: 113-120, 2012 doi: 10.1007/s10014-011-0069-6. 査読有
- ⑦ Nagaishi M, Arai M, Osawa T, Yokoo H, Hirato J, Yoshimoto Y, Nakazato Y. An immunohistochemical finding in glioneuronal lesions associated with epilepsy: the appearance of nestin-positive, CD34-positive and tau-accumulating cells. *Neuropathology*. 31: 468-75, 2011 doi: 10.1111/j.1440-1789.2010.01188.x. 査読有
- ⑧ Fujimoto Y, Hirato J, Wakayama A, Yoshimine T. Primary intracranial leiomyosarcoma in an immunocompetent patient: case report. *J Neurooncol*. 103:785-790, 2011 doi: 10.1007/s11060-010-0450-z. 査読有
- ⑨ 平戸純子. 臨床医のための神経病理 Pilomyxoid astrocytoma . *Clinical Neuroscience* 29: 378-379, 2011 査読無
- ⑩ 平戸純子. Rhabdoid tumor. *病理と臨床臨時増刊号* 28: 428-429, 2010 査読無
- [学会発表] (計 2 件)
- ① 平戸純子, Atypical teratoid/rhabdoid tumor の病理、第 58 回日本病理学会近畿支部学術集会、2012. 9. 15、兵庫医科大学講堂 (兵庫県)
- [図書] (計 2 件)
- ① 平戸純子、中山書店、癌診療指針のための病理診断プラクティス 脳腫瘍、2012 年、198-214
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 0 件)
- 名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：
- 取得状況 (計 0 件)
- 名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：
- [その他]
- ホームページ等
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
- 平戸 純子 (HIRATO JUNKO)
- 群馬大学・医学部・准教授

研究者番号：60208832

(2)研究分担者

宮永 朋実 (MIYANAGA TOMOMI)

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：30455951

(3)連携研究者

信澤 純人 (NOBUSAWA SUMIHITO)

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80635318

(4)連携研究者

中里 洋一 (NAKAZATO YOICHI)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10106908