

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：82606

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659650

研究課題名(和文)新規モデルマウスによるIDH1遺伝子変異のグリオーマ発生における役割の解明

研究課題名(英文)A model of the development of IDH1 mutated glioma

研究代表者

有田 英之 (ARITA, Hideyuki)

独立行政法人国立がん研究センター・中央病院・がん専門修練医

研究者番号：60570570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、悪性脳腫瘍である神経膠腫において近年重要な役割を果たしていると考えられているイソクエン酸脱水素酵素(IDH1)遺伝子変異が、本疾患の発生においてどのような役割を果たしているかを明らかにすることを目的にしたものである。本研究により、IDH1遺伝子変異をもつ腫瘍は、IDH1遺伝子変異をもたない腫瘍と異なった、特定の遺伝子変異の組み合わせを持つことを明らかにした。さらに、より実際の腫瘍に近いIDH1変異型腫瘍の実験動物モデル樹立には、特定の遺伝子変化の組み合わせが重要であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：This study is aimed to reveal the mechanism of the glioma development involving the mutation of isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1). We have revealed that IDH1 mutated gliomas show specific patterns of key genetic abnormalities and that those patterns are apparently different from that of IDH1-wild tumors. These results indicated that specific combination of key genetic changes is necessary in order to establish an experimental model of IDH1 mutated gliomas.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：glioma IDH1

1. 研究開始当初の背景

神経膠腫(glioma)は脳への浸潤性の高さから手術での全摘出は困難であり、そのサブタイプにより化学療法や放射線療法が選択されるが、依然、難治の疾患である。近年 glioma において、クエン酸回路の酵素である isocitrate dehydrogenase 1, 2 (IDH1, 2) の遺伝子変異が比較的高頻度に認められることが明らかになった。さらに IDH1 遺伝子変異は glioma 発生の初期に起きることが示唆され、IDH1 は glioma 発生(gliomagenesis)の最も重要な遺伝子の一つと考えられている。しかしながら IDH1 遺伝子変異の神経膠腫発生に関わる機序は解明されていないところが大きい。

2. 研究の目的

本研究では IDH1 遺伝子変異が glioma 発生にどのように関与するかを明らかにすべく、変異型 IDH1 遺伝子をもつ glioma 発生モデルを検討、さらに、変異型 IDH1 酵素により過剰産生される代謝産物をターゲットとした放射線画像での評価法を樹立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) IDH1 変異型グリオーマ発生モデルにおいて必須となる遺伝子変異の検索

脳腫瘍発生モデルの樹立法としては、限られた数の重要な遺伝子異常を導入する方法が試みられてきている。IDH1/2 変異をもつ神経膠腫ともたない神経膠腫計 546 腫瘍を対象に、神経膠腫における代表的な遺伝子変化との関係を検討した。TP53 はサンガーシーケンス法、MGMT メチル化はパイロシーケンス法、1p19q コピー数は MLPA 法または比較ゲノムハイブリダイゼーション法、EGFR 増幅・CDKN2A の欠失・CDK4 増幅・MDM2 増幅については比較ゲノムハイブリダイゼーション法で評価をおこなった。また、IDH1/2 については、サンガーシーケンス法またはパイロシーケンス法を用い評価した。また、悪性黒色腫において新規に点変異が発見されたテロメラーゼ逆転写酵素 (TERT) のプロモーター領域についてサンガーシーケンス法およびパイロシーケンス法で評価した。さらに、異種移植モデルでマウスに生着した神経膠腫および、既に細胞株化されたヒト神経膠腫細胞株について IDH1/2 を含む遺伝子変化に関し検討を行なった。

これらの遺伝子変化と IDH1/2 の変異との関係の評価し、これらからグリオーマ発生モデルにおける必須となる遺伝子変異を検討した。

(2) 変異型 IDH1 酵素により過剰産生される

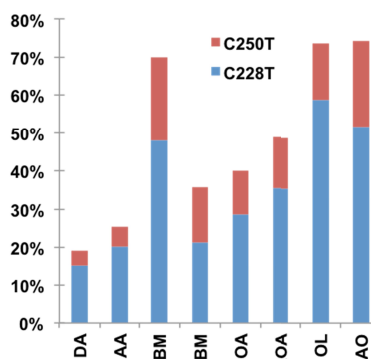
代謝産物をターゲットとした放射線画像での評価法

変異型 IDH1 遺伝子により過剰産生されると言われている 2-hydroxy glutarate (2-HG) の化合物と変異型 IDH1 遺伝子を導入した培養細胞系を用い、MRS (Magnetic resonance spectroscopy 法) を用いた画像化について検討をおこなった。

4. 研究成果

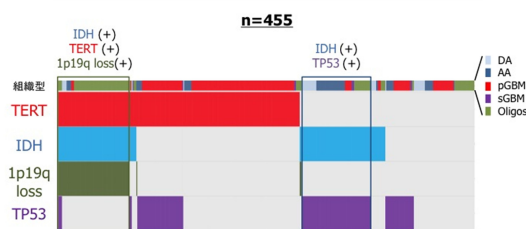
(1) IDH1 変異型グリオーマ発生モデルにおいて必須となる遺伝子変異

神経膠腫 546 腫瘍のうち、38% で IDH 変異を認めた。一方で、TERT (telomerase reverse transcriptase) プロモーターの点変異が神経膠腫における新規遺伝子変異として同定され、本コホートの 55% と高頻度に認められた。



一方、解析し得た例の中で、1p19q 共欠失は 18%、TP53 変異は 35% で認められた。さらに IDH 遺伝子変異をとこれらの関係を解析した結果を下図に示す(それぞれ縦のカラムが個々の腫瘍を示しており、組織型とそれぞれの遺伝子変異の関係を示している DA, 星細胞腫; AA, 退形成性星細胞腫; pGBM, 一次性的膠芽腫; sGBM, 二次性的膠芽腫; Oligos, 乏突起膠腫系腫瘍)。

IDH変異と他の遺伝子変異の関係



この検討から IDH 変異をもつ腫瘍は「1p19q 共欠失と TERT 変異をもつ」か、もしくは「TP53 変異をもつ」という、ほぼどちらかのパターンを示すことを明らかになった。

一方、12 の既に樹立された神経膠腫細胞株全てが、IDH1/2 の変異がなく、TERT プロモーターの変異を認めた。これらから、これら特定の遺伝子変化との組み合わせが、IDH1 変異をもつ腫瘍の発生機序において必須ないし重要であることが示唆された。さらに、既に樹立されマウス移植において生着可能な神経膠腫細胞株や、ヒト由来のマウスへの異種移植実験において生着可能な神経膠腫に関し、遺伝子解析をおこなった。これらの腫瘍および細胞株において、IDH1 変異をもつものは少なく、IDH1 変異をもつ腫瘍は特定の遺伝子変異しか示さないことを明らかにした。

2) 2-HG をターゲットとした MRS による画像化

2-HG の化合物を用い、in vitro での MRS 法での評価を試みた。しかし、2-HG はその構造から、グルタミン酸などとのピークの鑑別が困難であった。

これらから、2-HG を用いた MRS 法による早期の IDH1 遺伝子変異型神経膠腫の多段階発癌モデルの早期評価は困難であったが、よりヒト自然発生に近い発癌モデル作成において必須と考えられる重要な遺伝子変化を明らかにし、より理想的な実験系の樹立に向け重要な所見を得ることができたと考える。

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 6 件)

1. Arita H, Narita Y, Matsushita Y, Fukushima S, Yoshida A, Takami H, Miyakita Y, Ohno M, Shibui S, Ichimura K. Development of a robust and sensitive pyrosequencing assay for the detection of IDH1/2 mutations in gliomas. *Brain Tumor Pathol.* 2014, in press URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10014-014-0186-0> 査読あり

2. Kinoshita M, Sasayama T, Narita Y, Yamashita F, Kawaguchi A, Chiba Y, Kagawa N, Tanaka K, Kohmura E, Arita H, Okita Y, Ohno M, Miyakita Y, Shibui S, Hashimoto N, Yoshimine T: Different spatial distribution between germinal center B and non-germinal center B primary central nervous system lymphoma revealed by magnetic resonance group analysis. *Neuro Oncol.*, 2014;16:728-734 doi: 10.1093/neuonc/not319. 査読あり

3. Arita H, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M,

Sumi M, Shibui S. Risk factors for early death after surgery in patients with brain metastases -reevaluation of the indications for and role of surgery -. *J Neurooncol.* 2014;116:145-152 doi: 10.1007/s11060-013-1273-5. 査読あり

4. Arita H, Narita Y, Takami H, Fukushima S, Matsushita Y, Yoshida A, Miyakita Y, Ohno M, Shibui S, Ichimura K. TERT promoter mutations rather than methylation are the main mechanism for TERT upregulation in adult gliomas. *Acta Neuropathol.*, 2013;129:939-941 doi: 10.1007/s00401-013-1203-9. 査読あり

5. Arita H, Narita Y, Fukushima S, Tateishi K, Matsushita Y, Yoshida A, Miyakita Y, Ohno M, Collins VP, Kawahara N, Shibui S, Ichimura K. Upregulating mutations in the TERT promoter commonly occur in adult malignant gliomas and are strongly associated with total 1p19q loss. *Acta Neuropathol.* 2013;126:267-276 doi: 10.1007/s00401-013-1141-6. 査読あり

6. Arita H, Narita Y, Ohno M, Miyakita Y, Okita Y, Ide T, Shibui S. Management of glioblastoma in an nf1 patient with moyamoya syndrome: A case report. *Childs Nerv Syst.* 2013;29:341-345 doi: 10.1007/s00381-012-1948-9. 査読あり

〔学会発表〕(計 13 件)

1. 有田英之 “Mutations in the TERT promoter are highly recurrent and upregulate TERT expression in gliomas.” 第 31 回日本脳腫瘍学会学術集会 2013 年 12 月 10 日 宮崎

2. 木下学, 篠山隆司, 成田善孝, 山下典生, 川口淳, 千葉泰良, 香川尚己, 田中一寛, 甲村英二, 有田英之, 沖田典子, 大野誠, 宮北康二, 澁井壮一郎, 橋本直哉, 吉峰俊樹「中枢神経系悪性リンパ腫のサブタイプによる発生部位の相違について ~MRI グループ解析法による連続 100 例の解析結果~」第 31 回日本脳腫瘍学会 2013 年 12 月 8 日 宮崎

3. Hideyuki Arita, Yoshitaka Narita, Shintaro Fukushima, Kensuke Tateishi, Yuko Matsushita, Akihiko Yoshida, Yasuji Miyakita, Makoto Ohno, V. Peter Collins, Nobutaka Kawahara, Soichiro Shibui, Koichi Ichimura “Mutations in the TERT promoter are highly recurrent and upregulate TERT expression in gliomas.” 4th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology 2013 年 11 月 23 日 サンフランシスコ (米国)

4. Kinoshita M, Sasayama T, Narita Y, Kwaguchi A, Yamashita F, Chiba Y, Kagawa N, Tanaka K, Kohmura E, Arita H, Okita Y, Ohon M, Miyakita Y, Shizui S, Hashimoto N, Yoshimine T. "Different spatial distribution between GCB and non-GCB PCNSL revealed by MR group analysis of 100 cases." 4th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology 2013年11月23日 サンフランシスコ(米国)

5. 有田英之、成田善孝、宮北康二、大野誠、米澤元樹、角美奈子、渋井壮一郎「転移性脳腫瘍に対する手術の適応と役割」第51回日本癌治療学会学術集会 2013年10月26日 京都

6. 有田英之、成田善孝、福島慎太郎、立石健祐、松下裕子、吉田朗彦、宮北康二、大野誠、中村大志、川原信隆、渋井壮一郎、市村幸一「TERT プロモーター領域の変異はグリオーマに高頻度に認められ TERT 発現の上昇をもたらす」第72回日本脳神経外科学会学術集会 2013年10月17日 横浜

7. 木下学、高野浩司、沖田典子、千葉泰良、香川尚己、橋本直哉、吉峰俊樹「マルチモデル画像/組織ライブラリー構築のためのナビゲーション解析ソフトウェアの開発～マルチモデル手術の検証を目指して～」第72回日本脳神経外科学会総会 2013年10月16日 横浜

8. 木下学、有田英之、沖田典子、千葉泰良、香川尚己、畑澤順、橋本直哉、吉峰俊樹「悪性脳腫瘍手術におけるマルチモデル手術支援技術の検証」第18回日本脳腫瘍の外科学会 2013年9月19日 大津

9. 有田英之、成田善孝、松下裕子、吉田朗彦、宮北康二、大野誠、渋井壮一郎、市村幸一「Pyrosequence 法を用いたグリオーマにおける IDH 1/ 2 遺伝子変異の判定法」第31回日本脳腫瘍病理学会 2013年5月25日 東京

10. 有田英之、成田善孝、宮北康二、大野誠、野村昌志、渋井壮一郎「転移性脳腫瘍の手術適応の再検討～早期死亡例の解析から」第30回日本脳腫瘍学会学術集会 2012年11月25日 広島

11. Kinoshita M, Arita H, Chiba Y, Kagawa N, Nonaka M, Kanemura Y, Kishima H, Nakajima S, Hatazawa J, Hashimoto N, Yoshimine T "DIFFERENTIATION BETWEEN HIGH- AND LOW-GRADE MR NON-ENHANCING GLIOMAS USING PET; COMPARISON OF 11C-METHIONINE, FDG PET, AND 11C-METHIONINE/FDG DECOUPLING SCORE" The

17th Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology 2012年11月17日 ワシントン(米国)

12. 木下学、平山龍一、千葉泰良、香川尚己、埜中正 博、金村米博、貴島晴彦、中島伸、畑澤順、橋本直哉、吉峰俊樹「FDG/11C-methionine PET 非同期度による非造影グリオーマのグレード判別」第71回日本脳神経外科学会学術総会 2012年10月19日 大阪

13. 有田英之、成田善孝、宮北康二、大野誠、野村昌志、渋井壮一郎「転移性脳腫瘍の手術適応の再検討～早期死亡例の解析から～」日本脳神経外科学会第71回学術総会 2012年10月18日 大阪

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等: なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有田 英之 (ARITA, Hideyuki)
国立がん研究センター・中央病院・がん専門修練医
研究者番号: 60570570

(2) 研究分担者

木下 学 (KINOSHITA, Manabu)
地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立成人病センター(研究所)・脳神経外科・医長
研究者番号: 40448064

吉岡 芳親 (YOSHIOKA, Yoshichika)
大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任教授
研究者番号: 00174897

(3) 連携研究者

なし