

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462189

研究課題名(和文) 中枢神経系悪性リンパ腫の病因遺伝子と予後因子の解明

研究課題名(英文) Genetic alterations and prognostic factors for primary central nervous system lymphoma treated with R-MPV-A combination immunochemotherapy

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：予後不良の中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)に対し、rituximab及びアルキル化剤を加えた多剤併用R-MPV-A療法は有効性が高く、2012年以降に本療法を施行した32例で予後に関する臨床因子・分子マーカーの検索を行った。無増悪生存(PFS)に關与する因子(単変量)は、年齢(<70歳、 $p=0.059$)、単発($p=0.010$)、MGMTメチル化($p=0.056$)、MMSE 24($p=0.025$)であったが、MYD88変異はPFSに影響しなかった。MMR関連の因子はいずれも高発現群がPFS良好な傾向であった。MGMTメチル化や初発時の高MMSEスコアが予後良好因子の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Primary central nervous system lymphoma (PCNSL) is one of the deadly malignant brain tumors, but exhibits a high response to combination immunochemotherapy with rituximab, methotrexate, procarbazine, vincristine and cytarabine (R-MPV-A). We analyzed 32 patients with newly diagnosed PCNSL composed of diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) for potential genetic alterations as well as prognostic factors for progression-free survival (PFS). We found MYD88 mutations in 70% of patients which is much higher than in those with systemic DLBCL, while MGMT promoter was methylated in 60% of cases. Factors associated with longer PFS are age<70 years ($p=0.059$), single lesion ($p=0.010$), methylated MGMT promoter ($p=0.056$), and MMSE score 24 ($p=0.025$), but MYD88 mutations did not affect outcome ($p=0.186$, rather mutated MYD88 patients tended to live longer). These results suggest that methylated MGMT and high baseline MMSE score might predict higher benefit and better outcome with R-MPV-A treatment.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：脳腫瘍 中枢神経系悪性リンパ腫 遺伝子異常 MGMT MYD88 MMSE

1. 研究開始当初の背景

PCNSLはその殆どがB cell由来のdiffuse type (DLBCL)であり、他の細胞型・組織型が多彩にみられる全身性非ホジキン悪性リンパ腫(NHL)とはその成り立ちや臨床像に相違点が認められる。NHLでは、CHOP療法(CPA, Dox, VCR, Dex)にB-cell表面抗原のCD20に対するモノクローナル抗体のrituximabを加えたR-CHOP療法が標準治療法であるが、PCNSLに対しては有効性が認められず、現在大量MTX療法、大量AraC療法が標準的に使用され、更に神経膠腫に有効なtemozolomide (TMZ)が欧米及び本邦の臨床試験で試みられている(CALGB50202試験、RTOG0227試験、JCOG1114試験)。R-CHOPが無効である主因はこれらの薬剤が血液脳関門(BBB)非透過性である点にあるが、MTX、AraCなどの感受性を規定する有意な因子は未だ明確となっていないのが現状である。

我々は先行研究として、当科での大量MTX療法を主として施行した自験PCNSL例の腫瘍標本を用いて、B cell分化マーカーとMTX感受性関連因子、並びにTMZ感受性関連因子の発現・遺伝子メチル化とこれら症例の予後との相関を検討した。その結果、BCL6高発現はOS、PFS延長に、p27高発現はPFS延長に、多発病変はPFS短縮に、cMYC高発現はOS短縮に影響がみられた。更に、脳弓前半部と中脳被蓋・上髄帆を含む症例では有意にOS、PFSが短く、mismatch repair (MMR)蛋白発現を示す症例では有意にOS、PFSが延長することが示され、予後因子である可能性が示唆された(Lee J et al. manuscript submitted)。

さらに、我々は4施設でのPCNSL標本を集結し、whole exome sequencing (WES)を行うことでPCNSLの包括的遺伝子変異解析を行い、全身性DLBCLと異なり、高頻度にPIM1、MYD88、BTG2遺伝子等の変異が認められることを報告してきた(Fukumura K et al. Acta Neuropathologica, 2016)。しかしこれらの遺伝子異常のPCNSLの予後への影響は未検証である。

2. 研究の目的

2012年以降、当科では初発PCNSLに対しrituximab及びアルキル化剤を加えた多剤併用R-MPV-A療法を導入し、その有用性を報告してきたが、上記先行研究において抽出された予後関連因子や、PCNSLに特徴的な高頻度遺伝子変異が単一の治療を受けたコホートにおいて、その予後を規定する因子であるか否かを検証する。その結果から、JCOG脳腫瘍グループの初発PCNSLに対するMTX+TMZ療法の臨床試験の登録症例における予後因子並びに薬剤感受性因子の探索と予後との相関解析を主に、新規の規定因子の探索的解析も検討する。

3. 研究の方法

2012年以降に当科にて治療された初発PCNSL中、R-MPV-A療法を施行し6ヶ月以上経過した32例。Rituximab (D1)、MTX (D2)、procarbazine (D2-8、奇数回)、vincristine (D2)を5-8回施行後、地固め大量AraCを2回施行。導入R-MPVで完全奏効(CR)例は、70歳以上で非照射、70歳未満では24 GyをAraC前に照射した。これらの患者の臨床的予後関連因子及び分子マーカーによる予後解析をKaplan-Meier法、logrank検定等を用いて行った。

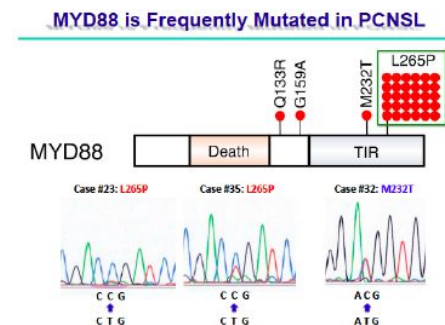
MYD88変異はSanger sequence法にて検出した。MGMT遺伝子プロモーター領域メチル化はmethylation-specific PCR (MSP)法とpyrosequencing法を用いて解析した。MMR蛋白、Bcl2、B細胞分化関連因子等は免疫組織化学染色を用いて検討した。また、経時的にKPS、MMSE、白質障害(Fazekas scale)を評価した。

4. 研究成果

(1) 背景因子:

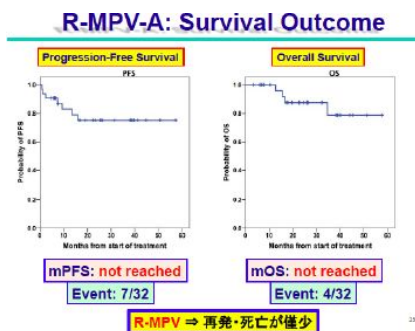
2012年以降の初発PCNSLで、R-MPV-A療法を施行した32例(治療開始後6ヶ月以上経過している患者)は、男性19例、女性13例、平均年齢69.3歳(34-90)、KPS中央値70(30-90)、MSKCCスコアは1(1例)、2(16例)、3(15例)、MMSE24点未満15例、24点以上14例、MRI上の白質変化(Fazekasスコア)は1(7例)、2(12例)、3(7例)、4(6例)、単発病巣18例であった。

B細胞分化のcell-of-origin (COO)分類では、GCBタイプが11例、non-GCBタイプが16例。MYD88変異(1例を除いてL265P変異)は19例(68%)、MGMTメチル化が17例(61%)で検出された。MMR蛋白は殆どの患者でいずれの因子も高発現が認められた。cMYC発現は低値、Bcl2、Bcl6は中等度の発現が認められた。



(2) 治療効果:

導入R-MPVのCR/CRu割合24/32(75%)、PR5(16%)、PD2(6%)であった。照射回避が15例、24Gyの減量照射12例(計84%)。大量AraC療法を23例(72%)で実施。観察期間平均24.6ヶ月(3.5-57.7)で再発7例(22%)、死亡4例(12.5%)と優れた生存予後を示した。Progression-free survival (PFS)及びoverall survival (OS)ともに未だ中央値に至っていない。



(3)神経認知機能、生活活動性、白質障害：

KPS は評価可能であった 26 例中、19 例 (73%) で経過中改善し、25 例で維持・改善を持続。20 点以上悪化したのは 3 例でいずれも progressive disease (PD)となった際に生じた。

MMSE (評価可能 23 例) は、3 点以上の改善を 15 例 (65%) で、20/23 例 (87%) で維持・改善を持続、4 点以上の低下は 2 例 (再発時) のみであった。

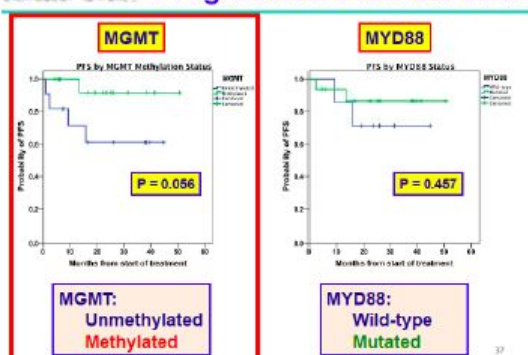
Fazekas 値は 21 例 (81%) で改善または維持されている。最長 4 年の経過で軽度 (スコア 1, 2) と高度 (3, 4) の割合に著変を認めなかった。非照射群 (13 例) では悪化例はなく、再発した 1 例で再発時に悪化した。一方、24Gy の減量照射群では 4 例 (24 例中、17%) に画像上の悪化がみられた。46Gy の照射群では 2/3 例 (67%) にスコアの悪化が認められた。

(4)予後因子：

PFS に関与する因子 (単変量) は、年齢 (70 歳未満、 $p=0.059$)、単発 ($p=0.010$)、MGMT メチル化 ($p=0.056$)、MMSE 24 ($p=0.025$) であった。MYD88 変異は $p=0.186$ でむしろ変異例の法が予後が良好な傾向であった。MMR 関連の因子はいずれも高発現群が PFS 良好な傾向であったが、有意差には至らなかった。GCB タイプも良好な傾向であったが、有意ではなかった ($p=0.344$)。Bcl2、Bcl6、cMYC の発現はいずれも予後と相関しなかった。

OS はイベントが 4 例のみと少なく、有意な解析はできないが、年齢 (70 歳未満) で有意な延長が認められた。

R-MPV-A: Progression-Free Survival



【結論】減量または非照射 R-MPV-A 療法は

高齢者を含めた PCNSL に対し高い有効性と活動性、高次脳機能の改善・維持、および白質障害の抑制効果が認められ、MGMT メチル化及び初発時の高 MMSE スコアが良好な PFS 予後因子であった。MMR 蛋白の高発現例も予後良好な傾向が認められたが有意差には至らず、今後の大規模な前向き解析が必要である。

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 8 件)

1. Nakamura T, Yamashita S, Fukumura K, Tanaka K, Tamura K, Tateishi K, Kinoshita M, Fukushima S, Takami H, Fukuoka K, Yamazaki K, Matsushita Y, Ohno M, Miyakita Y, Shibui S, Kubo A, Shuto T, Kocalkowski S, Yamanaka S, Mukasa A, Sasayama T, Mishima K, Maehara T, Kawahara N, Nagane M, Narita Y, Mano H, Ushijima T, Ichimura K: Genome-wide DNA methylation profiles identifies primary central nervous system lymphomas as a distinct entity from systemic diffuse large B-cell lymphomas. Acta Neuropathol, 査読有、(Feb) 133(2):321-324, 2017. doi: 10.1007/s00401-016-1664-8. Epub 2017 Jan 5
2. Nagane M, Keiichi K, Saito K, Sasaki N, Kume S, Yamagishi Y, Shimizu S, Suzuki K, Shiokawa Y: Combined immunochemotherapy, R-MPV-A, with reduced or deferred radiotherapy for PCNSL improves survival with favorable performance and cognitive function (abstr #ACTR-23). Neuro-Oncology, 査読有、18 (suppl 6), vi6-vi7, 2016
3. Fukumura K, D Kawazu M, Ueno T, Sai E, Soda M, Kojima S, Ueda H, Yasuda T, Yamaguchi H, Lee J, Shishido-Hara Y, Sasaki A, Shirahata M, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Saito N, Aburatani H, Nishikawa R, Nagane M, Mano H: Genomic characterization of primary central nervous system lymphoma. Acta Neuropathol, 査読有、131: 865-875, 2016. publish online 12 Jan 2016, DOI 10.1007/s00401-016-1536-2
4. Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Lee J, Shishido-Hara Y, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Aburatani H, Nishikawa R, Mano H: Genomic characterization of primary central nervous system lymphoma reveals predominant nonsynonymous somatic mutations of MYD88 and PIM1 genes (abstr GENO-27). Neuro-Oncology

- 17(suppl 5):v97-v97 · November 2015, DOI: 10.1093/neuonc/nov215.27
5. Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Lee J, Shishido-Hara Y, Shirahata M, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Nishikawa R, Mano H: Whole-exome sequencing analysis of primary central nervous system lymphoma reveals recurrent *MYD88* and *PIMI* mutations. Proceedings of 106th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. 査読有、Abst# 3893, 2015
 6. Keino H, Okada AA, Watanabe T, Echizen N, Inoue M, Takayama N, Nagane M: Spectral-domain optical coherence tomography patterns in intraocular lymphoma. Ocul Immunol Inflamm、査読有、2015 Mar 11:1-6
 7. 小林啓一, 永根基雄, 河合拓也, 野口明男, 塩川芳昭: 高齢者中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する大量methotrexate 基盤初期治療の成績と展望 (Outcomes of elderly patients with primary central nervous system lymphoma treated by high-dose methotrexate-based chemotherapy) (in Japanese). Geriatric Neurosurgery、査読無、26, 63-70, 2014
 8. 永根基雄: 脳神経外科医が解説する血液腫瘍: 悪性リンパ腫 (Primary central nervous system lymphoma). 脳神経外科速報、査読無、24 (6): 658-668, 2014
- 〔学会発表〕(計 12 件)
1. 永根基雄, 小林啓一, 齊藤邦昭, 李政勲, 佐々木重嘉, 久米賢, 山岸夢希, 清水早紀, 鈴木香, 塩川芳昭: 初発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する R-MPV-A 療法の予後因子および高次脳機能解析. 第 34 回日本脳腫瘍学会学術集会, 甲府市, 山梨県. 2016. 12. 4.
 2. Nagane M, Kobayashi K, Saito K, Sasaki N, Kume S, Yamagishi Y, Shimizu S, Suzuki K, Shiokawa Y: Combined immunochemotherapy, R-MPV-A, with reduced or deferred radiotherapy for PCNSL improves survival with favorable performance and cognitive function. 21th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology, Scottsdale, AZ, U.S.A., 2016. 11. 18
 3. 永根基雄 (講演): 悪性脳腫瘍治療のエビデンスと標準治療: 神経膠腫・悪性リンパ腫を中心に. 第 7 回悪性神経膠腫治療カンファレンス, 京都市, 2016. 10. 21
 4. 永根基雄, 小林啓一, 齊藤邦昭, 佐々木重嘉, 久米賢, 山岸夢希, 清水早紀, 鈴木香, 塩川芳昭 (シンポジウム): 初発中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する減量または非照射 R-MPV-A 療法による生存予後および高次脳機能の改善. 日本脳神経外科学会 第 75 回学術総会, 福岡市, 2016. 9. 29
 5. Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Lee J, Shishido-Hara Y, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Aburatani H, Nishikawa R, Mano H: Genomic characterization of primary central nervous system lymphoma reveals predominant nonsynonymous somatic mutations of *MYD88* and *PIMI* genes. 21th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy, Okinawa, Japan, 2016. 4. 13
 6. 永根基雄, 福村知隆, 上野敏秀, 李政勲, 原由紀子, 三島一彦, 市村幸一, 武笠晃文, 成田善孝, 油谷浩幸, 西川亮, 間野博行: 中枢神経系悪性リンパ腫に対する全エクソン及び RNA シークエンスによる遺伝子異常解析. 第 33 回日本脳腫瘍学会学術集会, 京都市, 京都府. 2015. 12. 8.
 7. Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Lee J, Shishido-Hara Y, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Aburatani H, Nishikawa R, Mano H: Genomic characterization of primary central nervous system lymphoma reveals predominant nonsynonymous somatic mutations of *MYD88* and *PIMI* genes. 20th Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, San Antonio, USA, 2015. 11. 21
 8. Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Aburatani H, Nishikawa R, Mano H: 中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する包括的遺伝子解析 (Genomic characterization of primary central nervous system lymphoma). 第 74 回日本癌学会学術総会, 名古屋市, 2015. 10. 10
 9. Nagane M, Fukumura K, Ueno T, Lee J, Shishido-Hara Y, Shirahata M, Mishima K, Ichimura K, Mukasa A, Narita Y, Nishikawa R, Mano H: Whole-exome sequencing analysis of primary central nervous system lymphoma reveals recurrent *MYD88* and *PIMI* mutations. American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2015, Philadelphia, PA, USA, 2015. 4. 21
 10. 永根基雄, 福村知隆, 上野敏秀, 李政勲, 原由紀子, 三島一彦, 市村幸一, 武笠晃文, 成田善孝, 西川亮, 間野博行: 中枢神経系原発悪性リンパ腫における全エクソンシークエンスによる遺伝子異常解析. 第 32 回日本脳腫瘍学会学術集会, 舞浜市, 千葉県. 2014. 12. 1
 11. 永根基雄 (特別講演): 中枢神経系原発悪性リンパ腫: 治療の進歩と展望. PCNSL – 頭蓋内悪性リンパ腫 -. 広島市, 広島県. 2014. 9. 26
 12. Nagane M, Lee J, Shishido-Hara Y, Suzuki K, Shimizu S, Umino M, Kobayashi K, Shiokawa Y (Lecture): Prognostic factors for

primary central nervous system lymphomas treated with high-dose methotrexate-based chemo-radiotherapy. The 20th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy, Lake Tahoe, Nevada, USA, 2014.
7.23

〔図書〕(計 2 件)

1. 永根基雄：中枢神経系原発悪性リンパ腫．In 脳腫瘍診療ガイドライン 2016年版，日本脳腫瘍学会(編)，金原出版，東京，Pp 97-128, 2016
2. 永根基雄: 悪性リンパ腫. In EBM に基づく脳神経疾患の基本治療指針 第4版. 田村晃，松谷雅生，清水輝夫，辻貞俊，塩川芳昭，成田善孝(編)，メジカルビュー社，東京，Pp126-136, 2016

6．研究組織

(1)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

(2)連携研究者

永根 基雄 (NAGANE, Motoo)
杏林大学・医学部・教授
研究者番号：60327468

(4)研究協力者

佐々木重嘉 (SASAKI, Nobuyoshi)
李政勳 (LEE, Jeunghun)
清水早紀 (SHIMIZU, Saki)
鈴木香 (SUZUKI, Kaori)