

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08970

研究課題名(和文) 新規バイオマーカーに基づく頭蓋内胚細胞腫瘍の革新的診断/治療システムの開発

研究課題名(英文) Development of an innovative diagnostic / therapeutic system for intracranial germ cell tumors

研究代表者

空閑 太亮 (KUGA, DAISUKE)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：40759932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：頭蓋内胚細胞腫瘍は適切な治療により長期生存が期待できる数少ない悪性脳腫瘍であるが、診断や経過の予測を行うためのバイオマーカーは存在しない。近年、microRNAが腫瘍形成の様々な過程に関与していることが明らかになりつつあるが、一方で体液中に放出される分泌型microRNAが、がんを代表とする様々な疾患のバイオマーカーとなり得るとして注目されている。本研究では、microRNA発現プロファイルに基づいて頭蓋内胚細胞腫瘍の診断を行うためのバイオマーカーの同定を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭蓋内胚細胞腫瘍については、ここ数年、国内外で網羅的な大規模遺伝子解析研究の報告が見られるようになってきたが、多部位の胚細胞腫瘍や他がん種と比較すると遅れているのが現状である。さらに、バイオマーカーについては現在においてもHCGやAFPなどの腫瘍マーカーや胎盤性アルカリフォスファターゼ(PLAP)などの酵素についての報告があるのみで、同腫瘍における分子バイオマーカーの報告は皆無である。頭蓋内胚細胞腫瘍は欧米よりも本邦を含むアジア諸国で頻度が高い疾患であることから、本研究の世界に与えるインパクトは非常に大きい。

研究成果の概要(英文)：Intracranial germ cell tumors are one of the few malignant brain tumors that can be expected to survive for a long time with appropriate treatment, however, there are no biomarkers for diagnosis or prediction of course. In recent years, it has become clear that microRNAs are involved in various processes of tumorigenesis. On the other hand, secretory microRNAs released into body fluids are attracting attention as they can be biomarkers for various diseases such as cancer. In this study, we aim to identify biomarkers for diagnosing intracranial germ cell tumors based on microRNA expression profiles.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：胚細胞腫瘍

1. 研究開始当初の背景

頭蓋内胚細胞腫瘍は浸潤性の悪性脳腫瘍であるが、治療感受性が高く長期生存が期待できるため、適切な時期に確実な診断を行うことが最も重要である。古くから HCG(ヒト絨毛ゴナドトロピン)、AFP(フェトプロテイン)などの腫瘍マーカーが診断に用いられてきたが、その陽性率は30~60%と高くなく、診断や治療効果の判定など様々な場面で判断に苦慮する場合も少なくない。さらに、本腫瘍は原生殖細胞 (primordial cell) を起源として発生し、分化の違いで数種の組織型 (ジャーミノーマ、胎児性癌、絨毛癌、卵黄のう腫、奇形腫) に分類されるが、実際にはこれらの腫瘍が種々の割合で混在している (混合性腫瘍) ことも多く、診断/治療が複雑化している。これらのことから組織型の診断から治療効果の判定まで可能とする新たなバイオマーカーへの期待は大きい。

Primordial cell から各組織型への分化はヒト ES 細胞の分化過程を模倣しており、近年、ES 細胞の分化に関わる様々な遺伝子発現制御が生殖器系の胚細胞腫瘍の発生/分化にも関与していることが明らかになりつつあるが (Eini R et al. *Int J Dev Biol.* 2013) 中でも microRNA が遺伝子発現調節機構において中心的な役割を担っていることが報告された (Murray MJ et al. *Andrology* 2015)。申請者らはこれまで、脳腫瘍幹細胞制御機構の解明を通じて、悪性神経膠腫臨床サンプルにおける microRNA の発現解析を行っており、その過程で種々の microRNA が腫瘍幹細胞から悪性神経膠腫への分化に関与していることを示すと同時に血中バイオマーカーとしての分泌型 microRNA の有用性についての研究を行い報告を行ってきた (*J Neurooncol* 2015, *Neuro Oncol* 2012, *Clin Can Res* 2010)。中でも、申請者らが同定してきた microRNA 群 (miR 371-373、miR302/367 クラスター) は、ヒト ES 細胞のみならず、生殖器胚細胞腫瘍においても特異的に高発現することが近年報告されており、同腫瘍のバイオマーカーとしての役割が期待されている。

頭蓋内胚細胞腫瘍は生殖器胚細胞腫瘍とほぼ同じ生物学的特性を持ち、生殖器胚細胞腫瘍の多くで活性化されている KIT/RAS、AKT/mTOR 経路は頭蓋内胚細胞腫瘍においても最も重要なシグナル経路である (Wan L et al. *Nature* 2014)。さらに、これらのシグナル経路は前述の miR302/367 クラスターによって制御されていることが報告されている (Wei ZJ. et al. *Int J Dev Biol.* 2015)。以上のことから頭蓋内胚細胞腫瘍形成においても microRNA が関連遺伝子の発現調節に関与していることが示唆されるが、その詳細は解明されていない。なかでも前述の miR371-3、miR302/367 クラスターは、腫瘍特異的なバイオマーカーの候補と考えられ、その発現量の組み合わせにより正確な分化評価 (組織型診断) が可能となると推察される。加えてこれらの microRNA は分泌型 microRNA でもあることから、血液中でのリアルタイムなモニタリングにも応用が可能であり、従来の腫瘍マーカーに変わる革新的なバイオマーカーとしても機能することが予測される。

2. 研究の目的

本研究では、頭蓋内胚細胞腫瘍患者の血液中からバイオマーカーを同定し、胚細胞腫瘍の組織型分類だけでなく、治療経過をリアルタイムにモニターするシステムを確立する。超高感度デジタル PCR 法を用いることで、従来の方法では検出できなかった微量の分泌型 microRNA でも定量が可能となり、より詳細な発現プロファイルの作成が可能となる。さらには上記で得られた microRNA プロファイルを様々な臨床データと統合し、AI を通じて腫瘍の組織型診断や治療計画の立案を自動的に行うことが可能となる。現在、頭蓋内胚細胞腫瘍においては、古くから存在する HCG や AFP に代わる新たなバイオマーカーとして確立されたものは存在しない。本研究

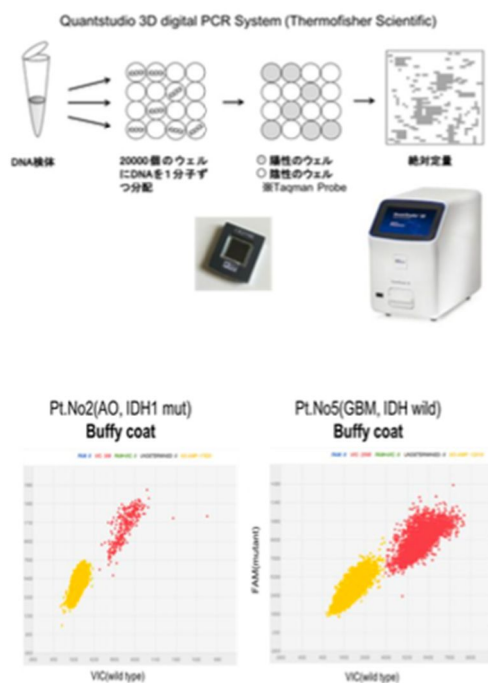
では単なる患者血液中のバイオマーカーに止まらず、革新的な自動診断 / 治療システムを確立することで、今後の腫瘍治療において新たな方向性を示すことに繋がる可能性を秘めた研究となる。

3 . 研究の方法

本研究の目的は、上記背景および研究成果をもとに、頭蓋内胚細胞腫瘍患者における新たなバイオマーカーに基づく診断 / 治療システムの確立にある。研究期間内には以下を明らかにする。頭蓋内胚細胞腫瘍臨床サンプルを用いて、網羅的 microRNA の発現プロファイルを基に、腫瘍分化過程および腫瘍組織型決定に関わる microRNA 群を同定する。同定した microRNA 群が患者血液中にも存在する分泌型 microRNA であることを確認し、治療前後、再発時などの臨床経過の様々な時点での推移を明らかにする。上記で得られた microRNA に関するデータ、臨床経過に関わるデータ（画像データや電子カルテなど）を統合し、AI 技術を応用した自動診断 / 治療アルゴリズムを作成する。

4 . 研究成果

まず、血液中、髄液中のバイオマーカーの同定が可能であるかの基礎実験を行った。胚細胞腫瘍患者の髄液、血液サンプルが当初では少なかったため、代替として代表的な脳腫瘍である神経膠腫患者から得た血液、髄液サンプルを用いて実験方法の確認を行った。高感度のデジタル PCR 法を用いることで、脳腫瘍患者の髄液中より腫瘍特異的遺伝子の検出が可能であった。



この手法で、胚細胞腫瘍患者の血液を用いた実験を遂行しようとしたが、結論としては、頭蓋内胚細胞腫瘍患者が平成30年度～令和2年度において、例年と比較して非常に患者数が少なく、十分な検体採取を行うことができなかった。

今後は引き続き、本実験を遂行していく。具体的には頭蓋内胚細胞腫瘍の各組織型の臨床サンプルより microRNA を含んだ total RNA を抽出する。網羅的 microRNA の解析には Agilent miRNA array を使用する。コントロールとしては正常組織(正常脳、松果体組織、精巣、卵巣)および生殖腺胚細胞腫瘍を用い、頭蓋内胚細胞腫瘍特異的 microRNA を同定する。さらに各腫瘍型における microRNA 発現プロファイルの比較により腫瘍型特異的 microRNA を同定する。これらの microRNA については、サンプル数を増やしデジタル PCR 法を用いて validation を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8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 Kuga Daisuke, Toda Masahiro, Ozawa Hiroyuki, Ogawa Kaoru, Yoshida Kazunari	4. 巻 121
2. 論文標題 Endoscopic Endonasal Approach Combined with a Simultaneous Transcranial Approach for Giant Pituitary Tumors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 173 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2018.10.047	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 -
1. 著者名 Michiwaki Yuhei, Hata Nobuhiro, Mizoguchi Masahiro, Hiwatashi Akio, Kuga Daisuke, Hatae Ryusuke, Akagi Yojiro, Amemiya Takeo, Fujioka Yutaka, Togao Osamu, Suzuki Satoshi O., Yoshimoto Koji, Iwaki Toru, Iihara Koji	4. 巻 187
2. 論文標題 Relevance of calcification and contrast enhancement pattern for molecular diagnosis and survival prediction of gliomas based on the 2016 World Health Organization Classification	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Neurology and Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 105556 ~ 105556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clineuro.2019.105556	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 -
1. 著者名 Togao Osamu, Hiwatashi Akio, Yamashita Koji, Kikuchi Kazufumi, Momosaka Daichi, Yoshimoto Koji, Kuga Daisuke, Mizoguchi Masahiro, Suzuki Satoshi O, Iwaki Toru, Van Cauteren Marc, Iihara Koji, Honda Hiroshi	4. 巻 91
2. 論文標題 Measurement of the perfusion fraction in brain tumors with intravoxel incoherent motion MR imaging: validation with histopathological vascular density in meningiomas	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The British Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 20170912
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1259/bjr.20170912	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 -
1. 著者名 Kuga Daisuke, Hata Nobuhiro, Akagi Yojiro, Amemiya Takeo, Sangatsuda Yuhei, Hatae Ryusuke, Yoshimoto Koji, Mizoguchi Masahiro, Iihara Koji	4. 巻 114
2. 論文標題 The Effectiveness of Salvage Treatments for Recurrent Lesions of Oligodendrogliomas Previously Treated with Upfront Chemotherapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 e735 ~ e742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2018.03.069	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 -

1. 著者名 Akagi Yojiro, Yoshimoto Koji, Hata Nobuhiro, Kuga Daisuke, Hatae Ryusuke, Amemiya Takeo, Sangatsuda Yuhei, Suzuki Satoshi O., Iwaki Toru, Mizoguchi Masahiro, Iihara Koji	4. 巻 35
2. 論文標題 Reclassification of 400 consecutive glioma cases based on the revised 2016WHO classification	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 81 ~ 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10014-018-0313-4	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 -

1. 著者名 Kuga Daisuke, Toda Masahiro, Yoshida Kazunari	4. 巻 120
2. 論文標題 Treatment Strategy for Tuberculom Sellae Meningiomas Based on a Preoperative Radiological Assessment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 e1279 ~ e1288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2018.09.054	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 -

1. 著者名 Kuga Daisuke, Toda Masahiro, Ozawa Hiroyuki, Ogawa Kaoru, Yoshida Kazunari	4. 巻 121
2. 論文標題 Endoscopic Endonasal Approach Combined with a Simultaneous Transcranial Approach for Giant Pituitary Tumors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 173 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2018.10.047	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 -

1. 著者名 Kanamori Masayuki, Takami Hirokazu, Yamaguchi Shigeru, et. al.	4. 巻 23
2. 論文標題 So-called bifocal tumors with diabetes insipidus and negative tumor markers: are they all germinoma?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology	6. 最初と最後の頁 295 ~ 303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/neuonc/noaa199	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Daisuke Kuga MD, PhD1; Toshiyuki Amano MD, PhD2; Yojiro Akagi MD1; Takeo Amemiya MD1; Yuhei Sangatsuda MD1; Ryusuke Hatae MD, PhD1; Nobuhiro Hata MD, PhD1; Koji Yoshimoto MD, PhD1; Masahiro Mizotuchi MD, PhD3; Koji Iihara MD, PhD1
2. 発表標題 Optimal Management of Functional Outcomes in Patients with Central Nervous System Germ Cell Tumors: Recommendations Based on 25 Years of Experience at a Single Institution
3. 学会等名 16th Meeting of Asian Society of Neuro-Oncology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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	赤木 洋二郎 (Akagi Yojiro) (10570773)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	
研究分担者	秦 暢宏 (Hata Nobuhiro) (10596034)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	

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
---------	---------