

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06339

研究課題名(和文) 低悪性度悪性神経膠腫における予後不良因子の解明

研究課題名(英文) Prognostic factors of diffuse lower-grade gliomas

研究代表者

青木 恒介 (Aoki, Kosuke)

京都大学・医学研究科・研究員

研究者番号：10759773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：神経膠腫は最も高頻度に発生する脳腫瘍の一つである。低悪性度神経膠腫(lower grade glioma、以下LGG)は全神経膠腫の1/3を占める腫瘍であり、IDH1/2変異、染色体1p/19qの共欠失の有無により明瞭に三群に分かれることが報告された。我々は、5つの大学病院から300を超えるLGGの検体提供を受け、網羅的に遺伝子異常探索を行い、各群において独立に予後不良因子となる遺伝子異常や臨床因子(年齢や手術摘出度など)を同定した。アメリカのthe Cancer Genome Atlas(TCGA)の公開データも使用し、これらの結果の確認も行った。

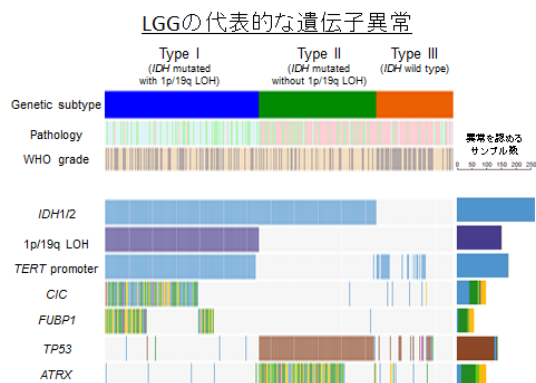
研究成果の概要(英文)：Diffuse lower-grade gliomas (LGGs) are genetically classified into three distinct subtypes based on IDH mutation and 1p/19q codeletion. However, the subtype-specific effects of additional genetic lesions on survival are largely unknown. In this study, we revealed the subtype-specific effects of genetic alterations and clinicopathological factors on survival in each LGG subtype, using Cox proportional-hazard regression modeling in our cohort. These results were largely confirmed using the dataset from The Cancer Genome Atlas. Our findings suggest that subtype-specific genetic lesions could stratify patients for better management.

研究分野：脳腫瘍

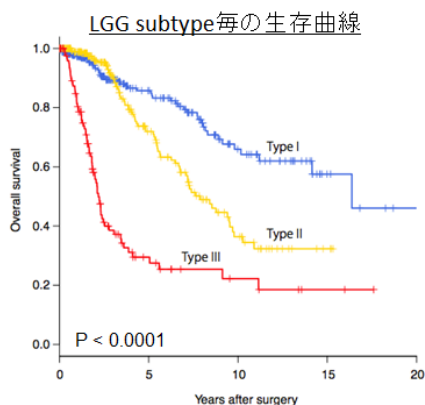
キーワード：神経膠腫 遺伝子異常 予後因子

### 1. 研究開始当初の背景

神経膠腫は最も高頻度に発生する原発性脳腫瘍の一つであり、World Health Organization (以下 WHO) grade I~IVに分類される。WHO grade II・IIIの神経膠腫(lower grade glioma、以下 LGG)は全神経膠腫の 1/3 を占める。LGG は緩徐に進行するが浸潤性腫瘍であり、多くの例で最終的に致死的となる。LGG は、これまで大規模な網



羅的遺伝子異常解析は行われてこなかったが、申請者らは日本で手術が行われた症例と、公開データである The Cancer Genome Atlas (TCGA) の症例、合計 757 例の LGG に対する遺伝子異常解析を行い、その全貌を明らかとした。その中で IDH1/2、TP53、ATRX、CIC、FUBP1、TERT promoter などの既知の遺伝子だけでなく、NOTCH pathway、SWI/SNF complex、histone methyltransferase、Receptor tyrosine kinases (RTK) - the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway を構成する遺伝子に有意に変異が認められることを明ら



かにした。また、LGG は IDH1/2 変異、1p/19q co-deletion の有無により 3 つの genetic subtype (Type I: IDH1/2 変異あり、1p/19q co-deletion あり、Type II: IDH1/2 変異あり、1p/19q co-deletion なし、Type III: IDH1/2 変異なし) に分けられること、それぞれの genetic subtype 間で発症年齢や病理所見、起こりやすい遺伝子変異やメチル化・遺伝子発現のパターン、生存期間等が有意に異なること、いずれの genetic subtype も WHO grade IV の膠芽腫 (glioblastoma、以下 GBM) とは発症年齢、生存期間など多くの点で有意に異なることを世界で初めて明らかにした。

従来神経膠腫は病理学的診断をもとに予後を判断していたが、この遺伝子異常による分類は、従来の分類より患者予後を正確に予想でき、術後の補助療法を考える上で有用であると考えられた。実際に、2016 年に改定された WHO が発行する脳腫瘍分類でも、病理診断だけでなく、IDH1/2 変異、1p/19q co-deletion の有無に基づく分類が LGG の分類として採用されている。さらに我々は、初発・再発検体及び手術時に複数の部位から検体採取を行う、マルチサンプリング検体に対し、シーケンス解析を行うことにより、subclone と呼ばれる共通の変異を持った複数の腫瘍群の構造を明らかにし、その進展形式を明らかにした。LGG において各変異遺伝子は初期に起こる変異とそれらに引き続き起こる変異が存在する、つまり IDH1 変異や 1p/19q co-deletion は腫瘍発生の初期に起こり、腫瘍の発生に関わる重要な遺伝子であること、一方その他の遺伝子変異はやや遅れて獲得され、腫瘍の進展に重要な役割を担っていることを明らかとした。この段階では、異なる subclone が独立に変異を獲得・進展し多様性を有しながら増殖していくことなどについて申請者らは報告した (Suzuki and Aoki et al.,

Nature Genetics, 2015)。

一方、これまでに LGG における遺伝子異常と患者予後について *IDH1/2* 変異や *1p/19q* co-deletion など腫瘍の発生に関わる遺伝子異常と患者予後との関連についての報告は散見されるが、その後獲得される腫瘍の進展に関わる遺伝子異常と患者予後について、網羅的に解析した研究はこれまで報告されていない。近年ゲノムシーケンシングの進歩により様々な悪性腫瘍は、subclone から構成され多様性を有することが明らかになってきた。前立腺がんでは、割合の少ない minor な subclone が治療抵抗性を持つなどして予後に影響していると報告されている (Gundem et al., Nature, 2015)。LGG においても、いくつかの遺伝子異常をもつ subclone が治療抵抗性や活発な細胞増殖能などを獲得し、患者予後と強い関連をもっていると予想される。今回、患者予後と関連を持つ遺伝子異常を明らかにすることで、より詳細な予後予測ができ、早期治療介入が必要な群を明らかにし、また効果的な治療法を明らかにできると期待される。

## 2. 研究の目的

申請者らは 757 例の LGG に対し網羅的な遺伝子変異、コピー数異常の解析を行い、その全貌を世界で初めて明らかにした。それにより、LGG は発生する特徴的遺伝子異常により 3 つの genetic subtype に分かれることが分かった。これまで、各 subgroup 内において、それぞれの遺伝子異常と患者予後については、小規模な報告がいくつかあるものの、網羅的に解析した報告はない。LGG に対する治療は未だエビデンスを持った標準治療は確立いないのが現状であり、今回それぞれの subtype において予後不良因子となる遺伝子異常を明らかにすることにより、早期治療介入が必要な群を明らかにすること、また効果的な治療法を明

らかにすることを目指す。

## 3. 研究の方法

本研究では、LGG の subtype 毎に、遺伝子異常と患者予後との関連を明らかにし、予後良好群、予後不良群を同定することを目的とする。先の研究で解析した症例について、次世代シーケンサー等を用いた解析を行い、同定された各異常を持つ腫瘍細胞の割合をより正確に決定する。遺伝子異常と臨床的因子との関係をみるために、各患者の詳細な臨床情報を協力施設から取得する。統計学的手法を用いて、各 subtype の予後不良因子を明らかとする。TCGA のデータを用いて、その結果を確認する。また、LGG よりさらに高悪性度な GBM と比較することで、同定した予後不良群の、臨床的、遺伝学的特徴を明らかとする。

## 4. 研究成果

前述した網羅的遺伝子異常の解析を行った日本の症例の内、308 例が詳細な臨床情報を入手可能であり、今回の研究に使用した。平均観察期間は 6 年以上であった。各 subtype において、年齢と WHO grade による影響を除いた上で、患者予後との間に有意な相関を認める遺伝子異常を、統計学的手法を用いて抽出した。有意な相関を認めた遺伝子異常について、年齢、WHO grade、手術摘出度などの臨床因子と合わせた多変量変数解析を行い、独立な予後因子となる遺伝子異常を同定した。多変量解析を行う際に、ステップワイズ変数選択を用いた。ステップワイズ変数選択はより重要な説明変数を選択するのに非常に有用な方法であることが知られているが、その一方最終的なモデルの不確実性も指摘されているため、ベイジアン モデル アベレージングという別の手法も同時に行い、上記と同様の結果であることを確認した。

TCGA にて公開されている合計 414

症例を用いて、それらの予後不良因子が、我々とは別のコホートでも患者予後と相関しているかを確認した。また、TCGA が公開している GBM のデータを用いることで、特定の subtype では、予後不良因子を持つ LGGs は、臨床的にも遺伝学的背景からも GBM と極めて近い一群であることを明らかとした。これらの研究成果をまとめ、現在論文を投稿中である。今回の研究成果から、LGG の遺伝子異常を調べることで、*IDH1/2* と 1/19q co-deletion の有無による 3 群だけでなく、より詳細に患者予後を予測できるようになり、より早期に治療介入が必要な群が明らかとなる。また、将来的には、予後不良因子を持つ患者に対し、それら遺伝子異常に対する分子標的薬を使うことで、大きな治療効果が得られることが期待される。

#### 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 0 件)

[学会発表] (計 9 件)

Kosuke Aoki, Hiromichi Suzuki, Kenichi Chiba, Yuichi Shiraishi, Tatsuya Abe, Teppei Shimamura, Atsushi Niida, Masashi Sanada, Masashi Miyano, Toshihiko Wakabayashi, Atsushi Natsume, Seishi Ogawa, Prognostic relevance of comprehensive genetic profiling in lower-grade gliomas、第 74 回日本癌学会学術総会、2015 年 10 月 10 日、名古屋国際会議場 (名古屋)

青木 恒介、鈴木 啓道、中村 英夫、本村 和也、大岡 史治、椎名 諭、山本 高士、溝口 昌弘、靱井 泰朋、村垣 善浩、眞田 昌、宮野 悟、若林 俊彦、小川 誠司、夏目 敦至、低悪性度神経膠腫 700 例における大規模ゲノ

ム解析と臨床、病理所見から得られた予後予測因子、第 74 回日本脳神経外科学会学術総会、2015 年 10 月 14 日、ロイトン札幌 (札幌)

KOSUKE AOKI, Hiromichi Suzuki, Hideo Nakamura, Kazuya Motomura, Fumiharu Ohka, Masahiro Mizoguchi, Yasutomo Momii, Yoshihiro Muragaki, Reiko Watanabe, Ichiro Ito, Satoru Miyano, Toshihiko Wakabayashi, Seishi Ogawa, Atsushi Natsume. Prognostic significance of genetic alterations from comprehensive analysis in lower-grade gliomas、20th ANNUAL SOCIETY FOR NEURO-ONCOLOGY SCIENTIFIC MEETING、2015 年 11 月 21 日、San Antonio (USA)

青木恒介、鈴木啓道、中村英夫、松尾 恵太郎、本村和也、大岡史治、椎名諭、山本高士、溝口昌弘、靱井泰朋、村垣善浩、眞田昌、宮野悟、若林俊彦、小川誠司、夏目敦至、WHO grade II/III 神経膠腫 700 例の大規模ゲノム解析から得られた遺伝学的予後予測因子、第 33 回日本脳腫瘍学会学術集会、2015 年 12 月 8 日、京都国際会議場 (京都)

K Aoki, A Natsume, H Suzuki, S Ogawa, T Wakabayashi, Comprehensive mutational and cytogenetic analysis revealed prognostic impacts of genetic alterations in grade II and III gliomas、KEYSTONE SYMPOSIA THE CANCER GENOME (Q1)、2016 年 2 月 11 日、Alberta (Canada)

Kosuke Aoki, Hiromichi Suzuki, Hideo Nakamura, Keitaro Matsuo, Kazuya Motomura, Fumiharu Ohka, Masahiro Mizoguchi, Yasutomo Momii, Yoshihiro Muragaki, Reiko Watanabe, Ichiro Ito, Satoru Miyano, Toshihiko Wakabayashi, Atsushi

Natsume, Seishi Ogawa、Genetic subtype-specific prognostic significance of genetic alterations in lower-grade gliomas、American Association for cancer research 2016 annual meeting、2016年4月20日、New Orleans(USA)

青木恒介、鈴木啓道、中村英夫、松尾恵太郎、本村和也、大岡史治、椎名諭、山本高士、溝口昌弘、靱井泰朋、村垣善浩、眞田昌、宮野悟、若林俊彦、小川誠司、夏目敦至、大規模ゲノム解析から明らかとなった grade II, III 神経膠腫における遺伝学的予後予測因子、第75回日本脳神経外科学会学術総会、2016年10月1日、福岡国際会議場(博多)

Kosuke Aoki, Hiromichi Suzuki, Keitaro Matsuo, Keisuke Kataoka, Teppei Shimamura, Yasunobu Nagata, Tetsuichi Yoshizato, Masashi Sanada, Satoru Miyano, Toshihiko Wakabayashi, Atsushi Natsume and Seishi Ogawa、Prognostic implications of genetic alterations from comprehensive genetic profiling in diffuse lower-grade gliomas、第75回日本癌学会学術総会、2016年10月6日、パシフィコ横浜(横浜)

Kosuke Aoki, Hiromichi Suzuki, Hideo Nakamura, Keitaro Matsuo, Kazuya Motomura, Fumiharu Ohka, Masahiro Mizoguchi, Yasutomo Momii, Yoshihiro Muragaki, Reiko Watanabe, Ichiro Ito, Toshihiko Wakabayashi, Atsushi Natsume, Seishi Ogawa、Comprehensive mutational and cytogenetic analysis revealed genetic prognostic factors in grade II and III gliomas、21th ANNUAL SOCIETY FOR NEURO-ONCOLOGY SCIENTIFIC MEETING、2016年11月20

日、Scottsdale(USA)

[図書](計0件)

[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

青木 恒介 (Aoki Kosuke)

京都大学大学院医学研究科研究員

研究者番号：10759773

### (2) 研究分担者 なし

研究者番号：

### (3) 連携研究者 なし

研究者番号：

### (4) 研究協力者 なし