

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15526

研究課題名(和文)FFPEを用いた松果体実質性腫瘍の分子基盤同定の挑戦

研究課題名(英文)Challenging study of molecular mechanisms in pineal parenchymal tumor

研究代表者

宮本 享 (Miyamoto, Susumu)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：70239440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：松果体実質性腫瘍は、pinealocyteに由来する稀な腫瘍で、その発生・悪性化の分子基盤は未解明である。本研究では、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織を用いて松果体実質性腫瘍の発生・悪性化の分子基盤の解析を行った。その結果、chromogranin Aがneurofilamentより予後因子として有用な可能性があった。ソマトスタチン受容体(SSTR2)の発現亢進を同定したが、SSTR2スコアとPPTIDの臨床経過、他の神経系マーカー、悪性度の相関は明らかでなかった。

研究成果の概要(英文)：Pineal parenchymal tumor is a rare tumor deriving from pinealocyte and molecular mechanisms of its oncogenesis and malignant transformation remain unclear. In this study, we have analyzed molecular mechanism in pineal parenchymal tumor using formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tumors. Expression of chromogranin A could be a prognostic maker better than that of neurofilament. Expression of somatostatin type2 (SSTR2) is increased, but did not have significant relationship with clinical result, other neuronal maker and malignancy.

研究分野：脳神経外科

キーワード：松果体実質性腫瘍 pineal parenchymal tumor 分子メカニズム molecular mechanism pinealocyte
悪性転化

1. 研究開始当初の背景

中分化型松果体実質腫瘍は、1993年 Schildらによってはじめて提唱され、2007年 WHO分類で松果体実質由来の腫瘍として認識された。しかし、松果体実質性腫瘍の発生・悪性化の分子基盤は未開の領域である。松果体は網膜に似た分子制御で発生し、Crx, Rax, Otx2 homeobox gene が発生制御をする (Nishida, Nature Neuroscience, 2003、Muranishi, Develop. Growth Differ., 2012)。これらの知見は、松果体実質性腫瘍には、pinealocyte 表現型に特異な発生・悪性化に関わる分子メカニズムの存在を示唆する。本研究の着想は、この松果体実質腫瘍に認められる特異な表現型である。

多くの悪性腫瘍では、ゲノムワイド変異解析による膨大な遺伝子異常から新たな知見が報告されている。しかし、従来のゲノムワイド変異解析は、適切な解析に多数の凍結標本が必要であり、十分な標本が得られない希少腫瘍を対象とすることが容易ではなかった。これまでに松果体実質性腫瘍を標的としたゲノムワイド変異解析、プロテオミクス解析を用いた報告なく、発生・悪性化の分子マーカーは未知である。

2. 研究の目的

本研究計画では、松果体実質腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織を用いた高感度質量分析器、高感度質量顕微鏡を用いた解析とゲノムワイド変異解析を進め、発生・悪性化に関わる候補分子を抽出し、発生・悪性化の分子マーカーを抽出する。抽出された分子群において統計学的な操作から、新規に松果体実質腫瘍の分子基盤を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

低悪性度の松果体細胞腫、中悪性度の中分化型松果体実質腫瘍、高悪性度の松果体芽腫の FFPE 組織をマイクロダイセクションにより腫瘍組織選択的に回収し、ゲノムワイド変異解析に適した高純度な DNA、mRNA を回収し、精製する。シークエンスに必要なライブラリー量を得るためにライブラリー増幅を新規の手法で実施する。ゲノムワイド変異解析では、特にエピジェネティック制御、分化誘導に関わる転写因子、シグナル分子に注目した解析を実施する

4. 研究成果

ゲノムワイド変異解析に適した高純度な DNA、mRNA を回収・精製を行った。組織解析から、chromogranin A が neurofilament より予後因子として有用な可能性があった。ソマトスタチン受容体 (SSTR2) の発現亢進を同

定したが、SSTR2スコアとPPTIDの臨床経過、他の神経系マーカー、悪性度の相関は明らかでなかった。今後、本研究で集まったデータ解析により、松果体実質腫瘍の分子基盤の解明を推進している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計13件)

1. Takuya Hinoda, Yasutaka Fushimi, Tomohisa Okada, Yoshiki Arakawa, Chunlei Liu, Akira Yamamoto, Tsutomu Okada, Kazumichi Yoshida, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Quantitative assessment of gadolinium deposition in dentate nucleus using quantitative susceptibility mapping. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 45(5):1352-1358, 2016
2. Toshiki Dodo, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Akihiko Sakata, Yoshiki Arakawa, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. T1-weighted MR imaging of glioma at 3 T: A comparative study of 3D MPRAGE vs. conventional 2D spin-echo imaging. Clinical Imaging, 40(6):1257-1261. doi: 10.1016/j.clinimag.2016.08.016. 2016
3. Rika Inano, Naoya Oishi, Takeharu Kunieda, Yoshiki Arakawa, Takayuki Kikuchi, Hidenao Fukuyama Susumu Miyamoto. Visualization of heterogeneity and regional grading of gliomas by multiple features using magnetic resonance-based clustered images. Scientific Reports 6:30344. doi: 10.1038/srep30344, 2016
4. Bin Liu, Yoshiki Arakawa, Daiki Murata, Yohei Mineharu, Ryuta Yokogawa, Masahiro Tanji, Ko-ichi Fujimoto, Nobuyuki Fukui, Yukinori Terada, Susumu Miyamoto. Clinicopathological, Radiological, and Genetic Analyses of Cerebellar Gangliogliomas with Long-Term Survival. World Neurosurgery 94:521-528. doi: 10.1016/j.wneu.2016.07.051. Epub 2016 Jul 22.
5. Megumi Uto, Takashi Mizowaki, Kengo Ogura, Yoshiki Arakawa, Yohei Mineharu, Susumu Miyamoto, Masahiro Hiraoka. Feasibility evaluation of hypofractionated radiotherapy with concurrent temozolomide in elderly patients with glioblastoma. International Journal of Clinical Oncology. 21(6):1023-1029. 2016.

- doi:10.1007/s10147-016-1014-9
6. Yukie Terada, Yohei Mineharu, Yoshiki Arakawa, Takeshi Funaki, Masahiro Tanji, Susumu Miyamoto. Effectiveness of neuroendoscopic ventricular irrigation for ventriculitis. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 146:147-51, doi: 10.1016/j.clineuro.2016.05.010. 2016
 7. Motomasa Furuse, Naosuke Nonoguchi, Toshihiko Kuroiwa, Susumu Miyamoto, Yoshiki Arakawa, Jun Shinoda, Kazuhiro Miwa, Toshihiko Iuchi, Koji Tsuboi, Kiyohiro Houkin, Shunsuke Terasaka, Yusuke Tabei, Hideo Nakamura, Motoo Nagane, Kazuhiko Sugiyama, Mizuhiko Terasaki, Tatsuya Abe, Yoshitaka Narita, Nobuhito Saito, Akitake Mukasa, Kuniaki Ogasawara, Takaaki Beppu, Toshihiro Kumabe, Tadashi Nariai, Naohiro Tsuyuguchi, Eiji Nakatani, Shoko Kurisu, Yoko Nakagawa, Shin-Ichi Miyatake. A prospective, multicentre, single-arm clinical trial of bevacizumab for patients with surgically untreatable, symptomatic brain radiation necrosis. *Neuro-Oncology Practice*, 3(4):272-280, 2016
 8. Bin Liu, Bo Pang, Huajie Liu, Yoshiki Arakawa, Rui Zhang, Bin Feng, Peng Zhong, Daiki Murata, Haitao Fan, Tao Xin, Guangyu Zhao, Wei Liu, Hua Guo, Liming Luan, Shangchen Xu, Susumu Miyamoto, Qi Pang. High mobility group A1 expression shows negative correlation with recurrence time in patients with glioblastoma multiforme. *Pathology - Research and Practice*, Volume 211, Issue 8, Pages 596-600, 2015,
 9. Akihiko Sakata, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Toshiki Dodo, Yoshiki Arakawa, Jun C Takahashi, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Primary central nervous system lymphoma: is absence of intratumoral hemorrhage a characteristic finding on MRI? *Radiology and Oncology* 49(2): 128-134, 2015
 10. Mitsue Miyazaki, Cheng Ouyang, Xiangzhi Zhou, James B. Murdoch, Yasutaka Fushimi, Tomohisa Okada, Koji Fujimoto, Aki Kido, Yoshiki Arakawa, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Z-Spectrum analysis provides proton environment data (ZAPPED): a new two-pool technique for human gray and white matter. *PLoS One*. 13;10(3):e0119915, 2015
 11. Sachi Okuchi, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Moritaka Yamauchi, Masako Kataoka, Yoshiki Arakawa, Jun C Takahashi, Sachiko Minamiguchi, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Grading meningioma: a comparative study of thallium-SPECT and FDG-PET. *Medicine*. 94(6):e549, 2015
 12. Akihiko Sakata, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Toshiki Dodo, Yoshiki Arakawa, Benjamin Schmitt, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Grading glial tumors with amide proton transfer MR imaging: different analytical approaches. *Journal of Neuro-Oncology*, 122, Issue 2, pp 339-348, 2015
 13. Satoshi Nakajima, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Yoshiki Arakawa, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Primary central nervous system lymphoma and glioblastoma: differentiation using dynamic susceptibility-contrast perfusion-weighted imaging, diffusion-weighted imaging, and (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Clinical Imaging* 39, 390-395, 2015
- [学会発表](計 18 件)
1. Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Yohei Mineharu, Masaharu Tanji, Megumi Uto, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Hypofractionated stereotactic radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for elderly glioblastoma. 13th Asian Society for Neuro-Oncology (ASNO) Meeting / 9th COGNO Annual Scientific Meeting. 11 - 14th September, 2016, Sydney Australia
 2. Yoshiki Arakawa, Daiki Murata, Yohei Mineharu, Masahiro Tanji, Ko-ichi Fujimoto, Bin Liu, Nobuyuki Fukui, Yukinori Terada, Susumu Miyamoto. Clinical Significance of PD-L1 and CD8 Expression in Human Medulloblastoma. 21st International Conference on Brain Tumor Research and Therapy, 10-13th April, 2016, Okinawa, Japan
 3. Yoshiki Arakawa, Bin Liu, Daiki Murata, Yohei Mineharu, Ryuta Yokogawa, Masahiro Tanji, Ko-ichi Fujimoto, Bin

- Liu, Nobuyuki Fukui, Yukinori Terada, Susumu Miyamoto. Analysis of pediatric cerebellar ganglioglioma. The 17th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology, 12-15th June, 2016, Liverpool, UK
4. 荒川芳輝 グリオーマに対する外科治療から化学療法 JCR ミッドサマーセミナー2016 2016/7/17 神戸
 5. 荒川芳輝、姜裕、陶山大輔、徳重一雄、山本拓史、渡邊督、渡部剛也 脳出血における内視鏡下脳内血腫除去術の現状と課題 第45回脳卒中の外科学会 2016/4/16 札幌
 6. 荒川芳輝 内視鏡手術のための曲がり凝固吸引管の開発 第3回 Wet field の会 2016/7/1 名古屋
 7. 荒川芳輝 グリオーマ手術の基本と注意点 第36回日本脳神経外科コンgres総会 2016/5/22 大阪 プレナリーセッション
 8. 荒川芳輝 岡本和也 黒田知宏 寺本隆史 丹治正大 峰晴陽平 宮本享 電子カルテ環境で使用可能なナビゲーションプランニングシステムの確立 第16回日本術中画像情報学会 2016/7/8 松山
 9. 荒川芳輝 姜裕 丹治正大 峰晴陽平 吉田和道 國枝武治 高木康志 宮本享 脳腫瘍に対する内視鏡手術：脳室内・脳室近傍腫瘍 第21回日本脳腫瘍の外科学会 2016/9/10 東京 シンポジウム
 10. 荒川芳輝、劉濱、山口真希、南口早智子、寺田行範、福井伸行、丹治正大、峰晴陽平、國枝武治、宮本享 Cerebellar ganglioglioma の臨床・病理像と遺伝子解析 第34回 日本脳腫瘍病理学会 2016/5/27 東京
 11. 荒川芳輝 國枝武治 稲野理賀 西田誠 中江卓郎 稲田拓 高橋由紀 小林環 丹治正大 峰晴陽平 菊池隆幸 吉田和道 高木康志 宮本享 3次元脳機能画像による術前計画と術中 3T-MRI 誘導を用いたグリオーマの外科治療 第75回日本脳神経外科学会総会 2016/10/1 福岡
 12. 荒川芳輝 術中 3T-MRI によるアップデートナビゲーションシステムを用いた手術と今後の展開 第1回新医療機器懇話会 2016/3/16 京都
 13. 荒川芳輝 溝脇尚志 小倉健吾 宇藤恵 峰晴陽平 丹治正大 平岡真寛 宮本享 頭蓋咽頭腫に対する通常分割定位放射線治療成績と視床下部機能 第26回日本間脳下垂体腫瘍学会 2016/2/19 福島
 14. 荒川芳輝 姜裕 丹治正大 峰晴陽平 吉田和道 高木康志 國枝武治 宮本享 脳腫瘍に対する内視鏡手術の適応と

成績 第23回日本神経内視鏡学会 2016/11/17

15. Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Yohei Mineharu, Masaharu Tanji, Kengo Ogura, Megumi Uto, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Bevacizumab, ifosfamide, carboplatin, and etoposide (BICE) concomitant with radiotherapy in patients with first recurrence of glioblastoma after temozolomide treatment. the 12th Meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology. September 17-20, 2015, Manila, Philippines.
16. Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Masahiro Tanji, Yohei Mineharu, Kengo Ogura, Megumi Uto, Takeharu Kunieda, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Retrospective review of glioblastoma patients treated with bevacizumab-containing and non-bevacizumab-containing regimens in a single institution. The 20th Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology. November 19 - 22, 2015 San Antonio, Texas.
17. 荒川芳輝、峰晴陽平、丹治正大、青木友和、上羽哲也、北条雅人、岩崎孝一、高橋淳B、國枝武治、高木康志、宮本享. 膠芽腫初回再発に対する放射線療法併用BICE療法. 第33回日本脳腫瘍学会学術集会. 2015年12月6日~8日 京都
18. 荒川芳輝 山口真希 南口早智子 羽賀博典 丹治正大 峰晴陽平 西田南海子 岩崎孝一 辻雅夫 宮本享. 中間型松果体実質腫瘍におけるソマトスタチン受容体発現の検討. 第33回日本脳腫瘍病理学会学術集会. 2015年5月29日(金)・30日(土)高松 香川

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願(計0件)取得(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮本享(Susumu Miyamoto)

京都大学医学研究科 教授

研究者番号: 70239440

(2)研究分担者

荒川芳輝(Yoshiki Arakawa)

京都大学医学研究科 特定講師

研究者番号: 20378649

(3)連携研究者

松田文彦 (Fumihiko Matsuda)
京都大学医学研究科 教授
研究者番号：50212220

(4)研究協力者

鶴山竜昭 (Tatsuaki Tsuruyama)
京都大学医学研究科 准教授
研究者番号：60437332
九山浩樹 (hiroki kuyama)
藤本浩一 (Ko-ichi Fujimoto)
劉 濱 (Bin Liu)