

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16646

研究課題名(和文) クローン進化説に基づいた神経膠腫遺伝子の空間的多様性の解析と治療選択モデルの構築

研究課題名(英文) Analysis of interregional differences in somatic genetic landscape and prognosis in glioblastoma

研究代表者

梅原 徹 (Umehara, Toru)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20792469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：膠芽腫個体間の遺伝子変異の不均一性や、その予後マーカーとしての意義を検証すべく、本邦の膠芽腫を対象とした遺伝子解析を行った。日本と米国のThe Cancer Genome Atlas (TCGA)の初発膠芽腫のデータベース(分子遺伝学的背景や臨床情報)を用いて詳細な生存解析を行った結果、新たな予後不良バイオマーカーとしてEGFR, PTEN, CDKN2Aのゲノムコピー数異常を共有する分子プロファイルとして「Triple CNA」を見出した。さらにこの予後不良な遺伝子プロファイルの極端な頻度差が、日本と欧米間で見られる膠芽腫の予後格差の主たる説明因子となっていることを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

希少疾患である膠芽腫において、国内200例を超えるIDH野生型膠芽腫の分子遺伝学的検討と詳細な生存解析を行った本研究は、アジア発の膠芽腫コホートとしては過去最大級となる。本研究結果により、「Triple CNA」などのゲノムコピー数異常が膠芽腫患者の新たな予後層別化因子となることが明らかとなった。さらにゲノムコピー数異常は、これまで報告されている膠芽腫の地域間予後格差の説明因子となり得ることが示された。地域差や人種差に着目した新たな膠芽腫臨床試験デザインや新規治療の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：We conducted the largest-ever retrospective cohort study for Japanese patients with glioblastoma and investigated the prognostic impact of copy number alterations (CNAs) using two population-based cohorts: an original Japanese cohort and a dataset from The Cancer Genome Atlas (TCGA). The results showed that the triple overlap CNAs in EGFR, CDKN2A, and PTEN (triple CNA) can be a common poor prognostic factor and that the discrepancies in the distribution of triple CNA in these two cohorts could provide a full account of the cohort disparities of survival duration.

研究分野：脳神経外科

キーワード：神経膠腫 遺伝子変異 コピー数異常 不均一性

1. 研究開始当初の背景

(1) 米国の TCGA (The Cancer Genome Atlas) プロジェクトを筆頭に、近年のゲノムシーケンシング技術により、膠芽腫において多種多様な染色体分配異常に伴う遺伝子座の増幅・欠失が見られることがわかっている。これらの変異はゲノムコピー数異常と呼ばれ、膠芽腫の **molecular subtype** を規定する重要な因子であることが知られているが、治療標的・予後バイオマーカーとしての臨床的意義は解明されていない。

(2) 膠芽腫の発病率や性差、治療成績などの大規模な疫学データの知見が集積されつつある中で、膠芽腫の治療成績が地域ごとに異なることがこれまで報告されている。特に日本人を含むアジア人種は、治療内容や社会的背景とは独立して予後良好であることが近年注目されているが、その背景については十分に明らかになっていない。このような膠芽腫の治療成績における地域差の存在は、国際的な臨床試験などの結果解釈を複雑なものとしている。

2. 研究の目的

(1) 本邦の初発膠芽腫を対象として遺伝子解析を行い、ゲノムコピー数異常の臨床的意義を検討する。

(2) 欧米人が対象となった TCGA との比較分析を行い、治療成績や分子遺伝学的背景における地域間不均一性の検証を行う。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、膠芽腫の地域間予後格差を明らかにするため、日本と米国 (TCGA) の初発膠芽腫患者の遺伝子解析や臨床情報を含むデータベースを用いて IDH 野生型膠芽腫の腫瘍組織を対象として分子遺伝学的検討を行った。

(2) 日本のコホートは神経膠腫 (膠芽腫を含む) を対象とする関西を中心とした多施設共同研究体制「関西中枢神経腫瘍分子診断ネットワーク」から収集された膠芽腫の腫瘍組織・臨床情報を用いた。

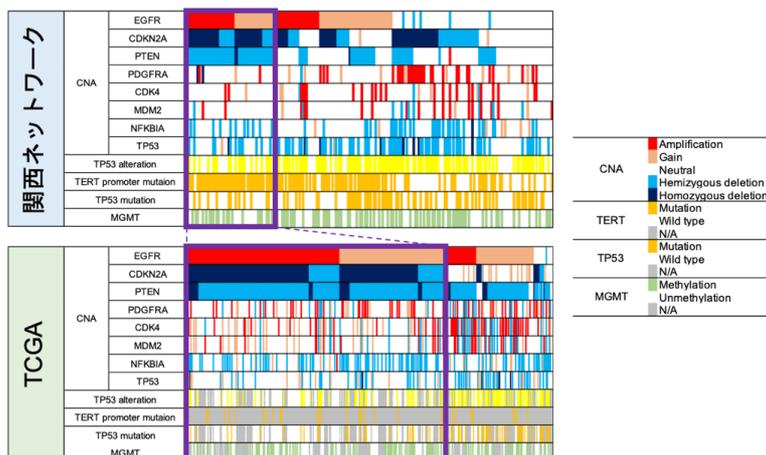
(3) 関西ネットワークから 212 名、TCGA から 359 名の膠芽腫患者を対象とした分子遺伝学的検討を行った。さらに標準治療群 (術後放射線 50-65Gy + テモゾロミド併用療法) を受けた集団のみを対象とした予後バイオマーカーの探索、詳細な生存解析を行った。

(4) コピー数異常解析には Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法を用い、主要な遺伝子コピー数異常 (EGFR, CDKN2A, PTEN, NFKBIA など) を解析した。また代表的な点突然変異である IDH、TERT、TP 53 変異についてはサンガーシーケンシング法を用い、MGMT プロモーターメチル化には定量的 Methylation specific PCR 法を用いた。解析対象とした主な Clinical status は年齢、術前全身状態、術後治療 (標準治療の有無)、全生存期間 (OS) などであり、これらと molecular status を統合した上、生存期間解析を行った。

4. 研究成果

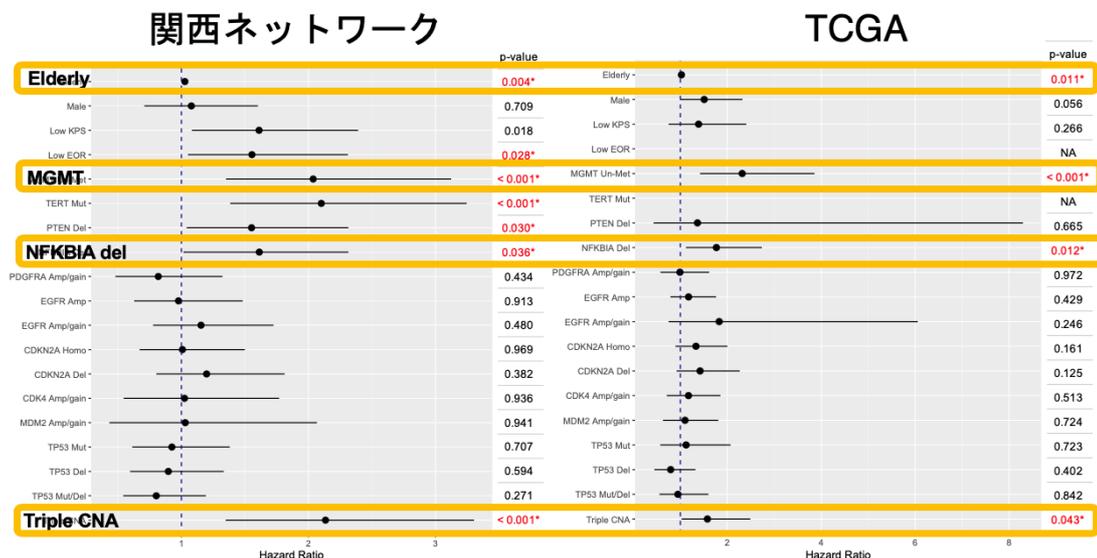
(1) 希少疾患である膠芽腫において、国内 200 例を超える IDH 野生型膠芽腫の分子遺伝学的検討と詳細な生存解析を行った本研究は、アジア発の膠芽腫コホートとしては過去最大級となる。初発膠芽腫の分子遺伝学的背景は、関西ネットワークと TCGA の間で異なる分布が見られ、特に一部のコピー数異常プロファイルには極端な頻度差が存在した。代表的なコピー数異常である EGFR、CDKN2A、PTEN を全て持つ集団を「Triple CNA」と定義したとき、その頻度はそれぞれ関西ネットワーク24.3%、TCGA 70.5%であった。

図 1 初発膠芽腫の分子遺伝学的背景



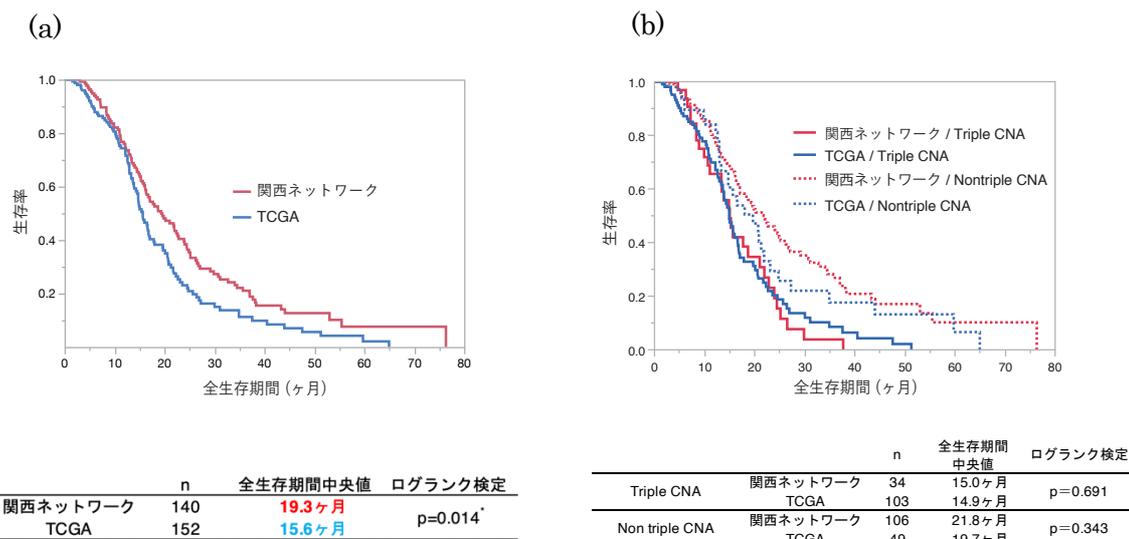
(2) コックス比例ハザードモデル (単変量解析) を用いて、各臨床情報や遺伝子変異と予後との相関性を解析した結果、2つのコホート間で共有される予後不良因子は高齢、MGMT プロモーターメチル化、NFKBIA 欠失、Triple CNA であった (図 2)。Triple CNA、NFKBIA 欠失などの膠芽腫コピー数異常はコホートを問わず予後との強い相関を示し、膠芽腫患者の層別化因子として有用であることが示された。

図 2 IDH 野生型膠芽腫における予後不良マーカー



(3) 初期標準治療を受けた患者群の比較では、図 3 (a) の生存曲線に示すように関西ネットワークの膠芽腫患者は TCGA よりも生存期間が 3.7 ヶ月間長かった。(全生存期間中央値 日本: 19.3 ヶ月、TCGA: 15.6 ヶ月) さらに図 3 (b) に示すように関西ネットワークと TCGA の間で見られる予後格差は「Triple CNA」の有無で補正した際に解消され、統計学的有意差は見られなくなった。一方で、共有の予後不良因子 (高齢、MGMT プロモーターメチル化、NFKBIA 欠失) においても同様の調節を行なったが、コホート間の予後格差は残存する結果となった。この結果に基づいて、日本と TCGA の標準治療成績 (予後) の差は Triple CNA の頻度差によって規定されていることが明らかとなった。

図 3 IDH 野生型膠芽腫患者の生存解析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Umehara Toru, Arita Hideyuki, Yoshioka Ema, Shofuda Tomoko, Kanematsu Daisuke, Kinoshita Manabu, et al.	4. 巻 7
2. 論文標題 Distribution differences in prognostic copy number alteration profiles in IDH-wild-type glioblastoma cause survival discrepancies across cohorts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1186/s40478-019-0749-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Junya Fukai, Hideyuki Arita, Toru Umehara, Ema Yoshioka, Tomoko Shofuda, Daisuke Kanematsu, Yoshinori Kodama, Masayuki Mano, Manabu Kinoshita, Yoshiko Okita, Masahiro Nonaka, Takehiro Uda, Naohiro Tsuyuguchi, Daisuke Sakamoto, Yuji Uematsu, Naoyuki Nakao, Kanji Mori, Yonehiro Kanemura	4. 巻 37
2. 論文標題 Molecular characteristics and clinical outcomes of elderly patients with IDH-wildtype glioblastomas: comparative study of older and younger cases in Kansai Network cohort.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 50-59
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10014-020-00363-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 梅原徹、有田英之、吉岡絵麻、正札智子、木下学、児玉良典、香川尚己、沖田典子、埜中正博、宇田武弘、深井順也、藤田浩二、阪本大輔、森艦二、貴島晴彦、金村米博
2. 発表標題 初発IDH野生型膠芽腫におけるNFkBIA欠失の臨床的意義の検討
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第78回学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅原徹、木下学、佐々木貴浩、有田英之、吉岡絵麻、正札智子、平山龍一、木嶋教行、香川尚己、沖田典子、宇田武弘、深井順也、森艦二、貴島晴彦、金村米博
2. 発表標題 機械学習による画像テクスチャ解析を用いた初発膠芽腫の予後推定
3. 学会等名 第37回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toru Umehara, Hideyuki Arita, Ema Yoshioka, Tomoko Shofuda, Daisuke Kanematsu, Manabu Kinoshita, et al.
2. 発表標題 Interregional differences in Distribution of Prognostic Copy Number Alterations in IDH-wild-type Glioblastoma
3. 学会等名 2019 Congress of Neurological Surgeons Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toru Umehara, Hideyuki Arita, Ema Yoshioka, Tomoko Shofuda, Manabu Kinoshita, Yoshinori Kodama, Naoki Kagawa, Yoshiko Okita, Masahiro Nonaka, Takehiro Uda, Junya Fukai, Daisuke Sakamoto, Kanji Mori, Haruhiko Kishima, Yonehiro Kanemura
2. 発表標題 A combination of MGMT methylation and NFKBIA copy number alteration refines prognostication of IDH-wt glioblastomas
3. 学会等名 Society for Neuro-Oncology 24th Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅原 徹、有田英之、阿知波孝宗、横田千里、香川尚己、藤本康倫、金村米博、貴島晴彦
2. 発表標題 「再発」グリオーマ摘出術の意義 IDH1変異が「消失」した症例の分子系統解析から
3. 学会等名 第23回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 梅原 徹、有田英之、香川尚己、藤本康倫、金村米博、貴島晴彦
2. 発表標題 「再発」グリオーマの系統解析 IDH1変異が「消失」した症例の解析より
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 梅原 徹、有田英之、吉岡絵麻、正札智子、木下 学、児玉良典、香川尚己、藤本康倫、沖田典子、埜中正博、宇田武弘、深井順也、藤田浩二、阪本大輔、森 艦二、貴島晴彦、金村米博
2. 発表標題 関西中枢神経腫瘍分子診断ネットワークにおける初発膠芽腫の遺伝子異常
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第77回学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 梅原 徹、有田英之、吉岡絵麻、正札智子、木下 学、児玉良典、香川尚己、藤本康倫、沖田典子、埜中正博、宇田武弘、深井順也、藤田浩二、阪本大輔、森 艦二、貴島晴彦、金村米博
2. 発表標題 膠芽腫におけるコピー数異常プロファイルの臨床的意義の検討
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Umehara T, Arita H, Yoshioka E, Shofuda T, Kinoshita M, Kodama Y, Kagawa N, Fujimoto Y, Okita Y, Nonaka M, Uda T, Fukai J, Fujita K, Sakamoto D, Mori K, Kishima H, Kanemura Y
2. 発表標題 The landscape of somatic mutations and copy number alterations in primary glioblastoma in Japan
3. 学会等名 Society for Neuro-Oncology 23rd Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 梅原 徹、有田英之、金村米博、香川尚己、藤本康倫、貴島晴彦
2. 発表標題 Grade II-III神経膠腫再発・悪性転化に対するペバジスマブの治療成績の検討
3. 学会等名 第35回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2017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 協力 者	有田 英之 (Arita Hideyuki)		