

令和 6 年 6 月 1 8 日現在

機関番号：3 2 4 0 9

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：1 9 K 0 9 5 3 5

研究課題名（和文）IDH変異型星細胞腫における悪性転化の分子背景の解明

研究課題名（英文）Molecular background of malignant transformation in IDH mutant astrocytic tumors

研究代表者

白畑 充章（Shirahata, Mitsuaki）

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：2 0 5 3 4 9 4 4

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：IDH変異型星細胞腫を対象にMLPA（Multiplex ligation-dependent probe amplification）法を用いて遺伝子コピー数異常を解析し予後との関連を調べた結果、CDKN2A/B遺伝子座共欠失を認めた群の生存期間中央値は1年未満で、共欠失のない群の生存期間中央値は12年を越え、両者に際立った違いを認めた。再発時にCDKN2A/B遺伝子座の共欠失を認めた症例は共欠失を認めなかった症例と比較して全例で急速な病勢の進行を認め、MLPA法に基づくCDKN2A/B遺伝子座の共欠失はIDH変異型星細胞腫の悪性転化の分子的指標となりうる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

星細胞腫は就労世代に好発する代表的な脳腫瘍の一種だが、その治療を困難にする要因として悪性転化が知られている。治療開始時に低悪性度であった腫瘍が再発時に高悪性度に変化する現象であり、星細胞腫が致死的な悪性脳腫瘍と認識される所以となっている。近年遺伝子異常の解明が進んでいるところだが、星細胞腫の悪性転化の分子背景は十分に定義されておらず、この現象を分子的に解明することは星細胞腫の新規治療開発につながる重要な課題となっている。本研究ではMLPA法に基づきCDKN2A/B遺伝子座の共欠失がIDH遺伝子変異型星細胞腫の悪性転化の中心的役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We analyzed copy number abnormalities using MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) in IDH-mutant astrocytomas and evaluated their prognostic relevance. The median survival of the patients with CDKN2A/B homozygous deletion was less than 1 year, while the median survival of the patients without homozygous deletion was more than 12 years, demonstrating a striking difference between the two groups. The patients with homozygous deletion of the CDKN2A/B locus at recurrence showed more rapid disease progression than those without homozygous deletion, indicating that homozygous deletion of the CDKN2A/B locus based on the MLPA assay may be a clinically useful molecular marker for malignant transformation in IDH-mutant astrocytomas.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：星細胞腫 IDH遺伝子変異 悪性転化 CDKN2A/B欠失

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

神経膠腫の悪性転化は、治療開始時に低悪性度であった神経膠腫が再発時に病態が変化し高悪性度となる現象であり、星細胞腫が低悪性度であっても致死的な悪性脳腫瘍と認識される所以である。悪性転化の分子背景は未だ明確に定義されておらず、この現象を分子的に解明することは治療開発につながる重要な課題である。研究代表者はマイクロアレイを用いた先行研究にて、IDH1/2 遺伝子変異型星細胞腫ではゲノムにコピー数異常が蓄積した群で予後が悪い傾向があり、さらに CDKN2A/B 遺伝子座に homozygous deletion を生じた群は著しく予後不良であったことを示した。しかし、マイクロアレイはゲノムスケールでの網羅的解析が可能で Discovery tool として優れる反面、臨床検査としては高価で汎用性に欠け、個々の遺伝子についてのコピー数異常の測定はプローブの設定が限定的で粗いという欠点があった。

### 2. 研究の目的

本研究では IDH 遺伝子変異型星細胞腫を対象に標的遺伝子領域に対してコピー数異常をより詳細に定量的に測定可能である MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) 法を用いて CDKN2A/B 遺伝子座を中心にコピー数解析を行い、詳細な臨床データをもとに治療予後との関連を解析し、IDH 遺伝子変異型星細胞腫の悪性転化例を特徴付ける分子異常を同定することを目的とした。

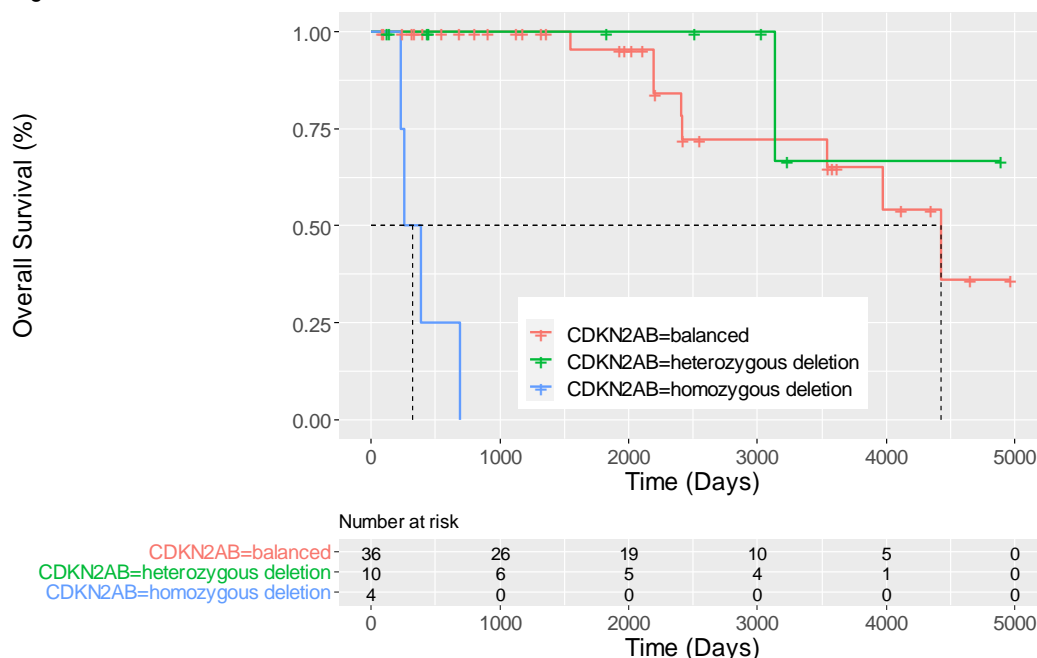
### 3. 研究の方法

埼玉医科大学国際医療センターにて摘出術を行った IDH1/2 遺伝子変異型星細胞腫症例で凍結保存された腫瘍組織と臨床データの取得が可能である症例を対象とし、MLPA 法を用いて先行研究で予後との関連が示唆された遺伝子のコピー数異常を評価した。特に CDKN2A/B 遺伝子座については MLPA 法の他に Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)、MTAP 抗体による免疫染色を行い、多角的に CDKN2A/B 遺伝子座のコピー数異常を解析した。

### 4. 研究成果

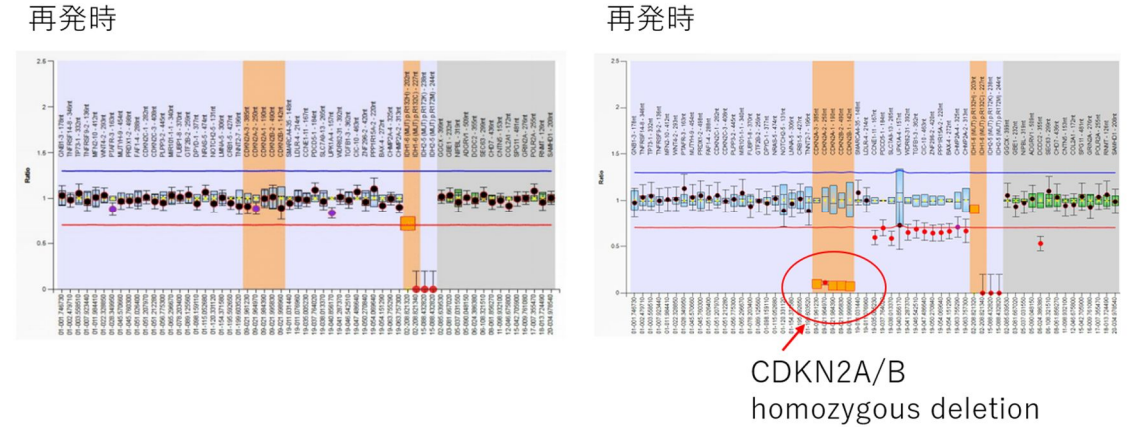
41 人から 60 検体を収集した。内訳は初発手術 41 検体、再発時手術 7 検体、再再発時手術 2 検体、同一腫瘍内にて部位別にサンプリングを行った 10 検体である。初発-再発のセットは 5 人、初発-再発-再再発のセットは 2 人であった。同一腫瘍内にて複数箇所サンプリングを行った 10 検体を除く 50 検体における CDKN2A/B 遺伝子座の状態は、homozygous deletion 4 検体 (8%)、heterozygous deletion 10 検体 (20%)、balanced 36 検体 (72%) であった。治療予後との関連について、手術からの median survival time (MST) を解析した結果、CDKN2A/B homozygous deletion 群で 10.6 か月、heterozygous deletion 群では not reached、balanced 群では 145.6 か月であり、CDKN2A/B 遺伝子座の homozygous deletion の有無により予後に際立った違いがあることが明らかとなった (Figure1)。CDKN2A/B homozygous deletion を認めた症例の内訳と術後の全生存期間 (OS) の詳細は、再発時検体が 2 人で OS は 7.5 か月と 8.6 か月、再々発時検体が 1 人で OS は 23.1 か月、初発時検体は 1 人で OS は 12 か月であった。

Figure1



再発時検体において CDKN2A/B 遺伝子座が保持される症例と deletion が加わる症例に分かれた(Figure2)。

Figure2



初回手術から再発までの期間、再発時の CDKN2A/B 遺伝子座の状態と治療予後との関連を調べた結果、CDKN2A/B 遺伝子座に homozygous deletion を生じるまでの期間は 50 カ月から 110 カ月と幅があり、再発時に CDKN2A/B 遺伝子座に homozygous deletion を認めた症例では全例で急速に病勢が進行し死亡に至った一方、CDKN2A/B 遺伝子座が保持されていた症例では良好な病勢コントロールが確認されたことから、MLPA 法に基づく CDKN2A/B 遺伝子座 homozygous deletion の評価は IDH 変異型星細胞腫の悪性転化の分子的指標の一つとなり得ることが示唆された(Table1)。

Table1

	初回手術時 CDKN2A/B status	再発時 CDKN2A/B status	再発までの 期間(month)	再再発時 CDKN2A/B status	再再発までの 期間(month)	最終手術からの 生存期間(month)
1	balanced	heterozygous deletion	15.6			14.3 (生存)
2	balanced	heterozygous deletion	103.5			14.6 (生存)
3	balanced	homozygous deletion	110.5			7.5 (死亡)
4	balanced	balanced	80.4			39 (生存)
5	balanced	balanced	5.9	balanced	26.9	37.3 (生存)
6	heterozygous deletion	homozygous deletion	96			8.6 (死亡)
7	balanced	balanced	59.3	homozygous deletion	50	23.1 (死亡)

また CDKN2A/B 遺伝子座全体に homozygous deletion が起こる前に部分的な欠失がみられることを確認できた症例があり、悪性転化の前段階として臨床的には注意を要することが示唆された。CDKN2A/B 遺伝子座 heterozygous deletion は、全体では balanced 群と予後の違いは認めなかったが、Exon 別に解析を行った結果、Exon2 の homozygous deletion を認めた症例で早期再発を認め、p14, p16 両遺伝子の構成因子である Exon2 の homozygous deletion は予後に関連する可能性が考えられた。一方 Exon1 や Exon3 のみに欠失をもつ症例は認めなかった。

術前画像で局所悪性化が示唆された症例について術中ナビゲーションを用いたサンプリングを行い、腫瘍内不均一性を検討した結果、病理所見にて高悪性度部位で CDKN2A/B 遺伝子座に homozygous deletion を認め、IDH 変異型星細胞腫における局所悪性転化を遺伝子コピー数異常の違いで捉えた可能性が考えられた。

本研究では IDH 遺伝子変異型星細胞腫において病勢の急速な進行が起こった症例全例で CDKN2A/B homozygous deletion を確認し、悪性転化の分子指標となり得ることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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