

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03789

研究課題名(和文) 神経膠腫における腫瘍進化的トラジェクションの解明と次世代個別化医療の探索

研究課題名(英文) The evolutional trajectory and precision-medicine to gliomas

研究代表者

夏目 敦至 (Natsume, Atsushi)

名古屋大学・未来社会創造機構・特任教授

研究者番号：30362255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：数理モデルによって、低悪性度IDH変異神経膠腫の各患者さんにとって、悪性化を防ぎ、結果として生存率を向上させる治療が提示できる。また、本解析アプローチは、新たな治療法や他の悪性腫瘍にも応用可能な汎用性の高いものである。また、尿による本ナノワイヤ診断技術は、肺がん等の他のがんも尿で高精度に診断できる可能性が高い。それを達成することで、わずかな尿を使用し、脳腫瘍だけでなく、多種類のがんを同時に発見できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が作成したモデルは脳腫瘍の悪性度や大きさを問わず、正確に診断することができた。本研究から尿中のマイクロRNAは今後、脳腫瘍のバイオマーカーとして実用化される可能性が示された。本数理モデルによって、低悪性度IDH変異神経膠腫の各患者さんにとって、悪性化を防ぎ、結果として生存率を向上させる治療が提示できる。また、本解析アプローチは、新たな治療法や他の悪性腫瘍にも応用可能な汎用性の高いものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have established a novel mathematical model to predict the progression and malignant transformation of IDH-mutant glioma. This model would allow us to choose the best treatment option for the patients with those brain tumors, which is still under debates. Moreover, we have developed a urinary liquid genetic diagnosis system that is easy and less invasive. This technology can detect even an early brain tumors, regardless of tumor types, at over 90% of sensitivity and specificity. Our computed mathematical model and urinary-based next-gen diagnosis both have great potential to apply clinically and render patients to survive longer.

研究分野：がんゲノム

キーワード：脳腫瘍 数理モデル 尿遺伝子解析

1. 研究開始当初の背景

脳腫瘍の診断と治療において、最も重要なのは、腫瘍の進展や悪性の頻度を考慮にいれて、最善のタイミングに最善の治療を施すことである。腫瘍のひとつひとつの細胞の増殖率、悪性化率(遺伝子変異率)を算出することで、個体の腫瘍の増殖曲線と変異確率を提示できる。これまで、「積極的治療を今おこなわなくても、しばらく経過観察でよい」とされていた腫瘍は、この治療法で本当に良いのだろうか。これを数理モデルで明らかにした。その場合でも早期発見は予後良好に資するところが大きい。早期発見は勘弁な検査で達成できるようになった。尿 1 mL に含まれる遺伝子の解析により脳腫瘍や他のがん種を早期診断できる画期的な技術を開発した。

2. 研究の目的

I. 脳腫瘍の悪性化を防ぐ最適解を導く数理モデル

びまん性神経膠腫は、中枢神経系悪性腫瘍の約 80% を占め、世界保健機関 (WHO) により、その病理組織学的および臨床的挙動に応じて、グレード II ~ IV に分類されている。WHO 悪性度 II のびまん性神経膠腫の約 80% が IDH (*IDH1* もしくは *IDH2*) 遺伝子変異を持ち、通常、低悪性度 IDH 変異神経膠腫と呼ばれる。この腫瘍は、一般的に緩徐な増殖を示すが、しばしば悪性化を起し、高悪性度の腫瘍として再発し生命を脅かす。歴史的には、低悪性度 IDH 変異神経膠腫に対して、症状が出現するまで治療を行わないいわゆる「経過観察(wait-and-see)」治療が好まれることが多く、その後早い段階での手術の有効性が示されたこと、また水が染み込むように周りに広がる性質(びまん性浸潤)を持つことから、手術単独での治療は期待できないことにより、現在では手術と共に化学療法や放射線治療が広く行われている。化学療法や放射線治療は腫瘍の増大を抑える一方で、遺伝子変異を引き起こすことで悪性化を誘発する可能性も報告されている。それぞれの患者さんに対して、どの治療をどのタイミングで行うのが悪性化を防ぐために最適な治療であるかはわかっていない。

II. 1mL の尿で脳腫瘍を早期診断可能にするナノワイヤ技術

がんの早期発見は、近年のがんの生存率の上昇の一つの要因である。しかし、脳腫瘍の生存率はここ 20 年ではほぼ変化がなく、これは他のがん比べ、脳腫瘍が発見される時期が遅いことが原因のひとつと考えられる。一般的に、手足が動かない、言葉が話せないといった神経症状が出現して初めて CT や MRI 検査を受け、脳腫瘍が発見される患者さんが多く、その場合はすでにかかなりの大きさに進行しているため、手術で完全に取り除くことがしばしば困難である。我々は、生体の機能を調整する核酸であるマイクロ RNA を脳腫瘍診断のバイオマーカーの候補と考えた。マイクロ RNA は細胞外小胞の中に含まれており、多くの細胞外小胞体は血液だけでなく尿中でも壊れずに安定して存在している。尿は誰でもいつでも簡単に採取ができる利点がある一方で、超遠心法等の従来の方法では尿から多くの種類のマイクロ RNA を集めることができない。そこで、尿中の細胞外小胞体が効率良く集められるナノサイズの酸化亜鉛ナノワイヤ装置を開発し、尿による早期の脳腫瘍診断方法の確立を目指した。

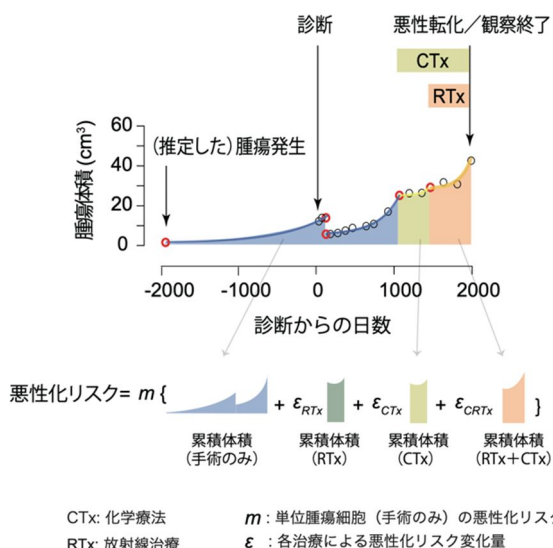


図1 数理モデル 低悪性度 IDH 変異神経膠腫の腫瘍進展と悪性化

3. 研究の方法

1. 脳腫瘍の悪性化を防ぐ最適解を導く数理モデル

これまで様々な悪性腫瘍の実験データや臨床データを解釈するために、数学的なアプローチ(数理モデル)が適用されてきた。この手法を用いることで、限られたデータから“真の”値を推定したり、例えば「既に有効であるとされている治療を行わない患者群を設ける」など倫理的に行うことができない比較を、コンピューター上でシミュレーションしたりすることが可能となった。今回は、日本の 10 施設で治療された 276 例の低悪性度 IDH 変異神経膠腫の MRI から算出した腫瘍体積と治療歴を含む時系列データを用いて、治療による影響を加味した腫瘍増殖に関する数理モデルを構築し、さらに網羅的な遺伝子変異解析を行うことで、各治療が腫瘍の増殖および悪性化に与

える影響を推定し、各症例において悪性を防ぐ最適な治療戦略を明らかにすることを旨とした。低悪性度 IDH 変異神経膠腫は 1 番染色体の短腕(1p)と 19 番染色体の長腕(19q) が共に欠失(1p/19q 共欠失⁴)している症例(IDH^{mut}/1p19^{code1})としていない症例(IDH^{mut}/1p19^{noncode1})で、臨床経過などが大きく異なることから、これらを別サブタイプとして分類する分類が、WHO を含め広く用いられており、本研究においても同分類を採用し解析を行った。各患者さんの経過中の腫瘍体積変化から治療毎の腫瘍増殖速度を推定したところ、手術単独に比べ化学療法や放射線治療を行うと明らかに腫瘍増殖速度が緩徐になっていた。続いて数学的アプローチを用いて細胞あたりの悪性転化リスクを推定した。具体的には 1) 腫瘍細胞が遺伝子変異などの「悪性化に関わるイベント」を稀に獲得し、これが一定数蓄積された段階でその細胞は悪性化すると仮定し、2) 化学療法や放射線治療は、これらの治療を受けていない腫瘍細胞に比べ「悪性化に関わるイベント」を獲得する確率を変化させると仮定して、各症例の経過中の悪性化リスクを計算した(図 1)。実際に悪性転化した人と悪性化しなかった人を比較し、最も当てはまりがいい値を採用した。

II. 1mL の尿で脳腫瘍を早期診断可能にするナノワイヤ技術

今回、ナノワイヤを約 1 億本搭載した大量生産可能な装置を開発した。この装置で尿中の細胞外小胞体を捕捉し、内部のマイクロ RNA を抽出したところ、従来の超遠心法や商品化カラムの方法に比べ、明らかに多くの種類のマイクロ RNA を高純度で抽出することが可能であり、また高い再現性を示した。

脳腫瘍由来のマイクロ RNA が尿中に認められるかどうかを調べるため、脳腫瘍患者さんの腫瘍組織(オルガノイド)を培養し、ナノワイヤ装置を用いて脳腫瘍組織が分泌しているマイクロ RNA を抽出した。

4. 研究成果

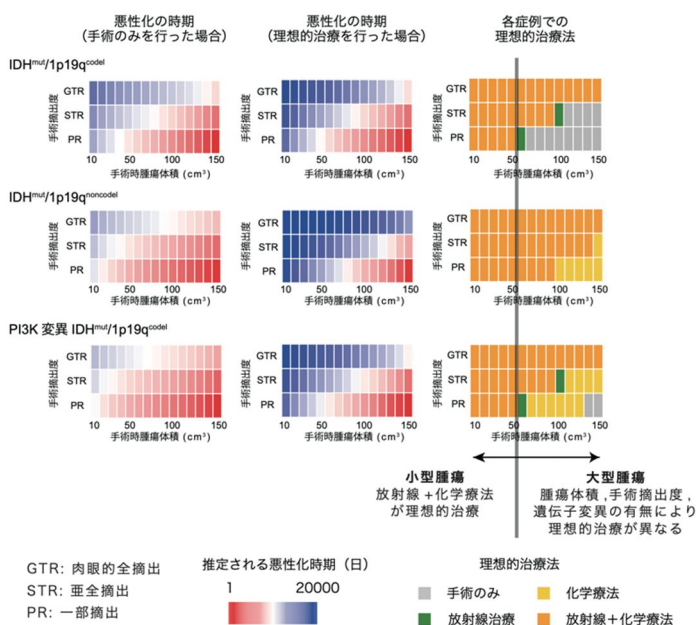


図 2 体積と手術摘出度別の悪性化時期と理想的治療法

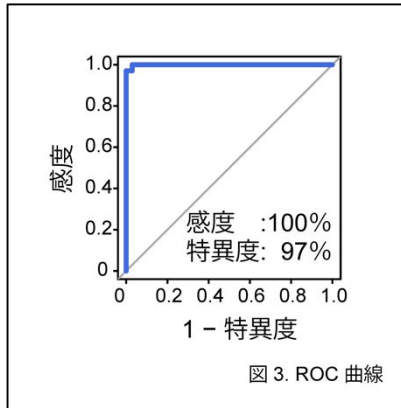
1p/19q 共欠失を持つ腫瘍では、体積が大きい、十分な手術摘出を行うことが困難、また IDH^{mut}/1p19^{code1} において PI3K (PIK3CA もしくは PIK3R1) 変異を持たない場合には、術後治療がむしろ悪性化を早めてしまう(図 2)。同時に、もしも実際の診断時より腫瘍が小さな段階で診断し治療を行うことができた場合に悪性化の時期がどう変化するのかをシミュレーションしたところ、腫瘍が可能な限り小さい段階で手術し、化学療法および放射線を行うことが、悪性化を防ぐのに極めて重要であることがいえる。つまり、低悪性度 IDH 変異神経膠腫の悪性を防ぐ上で、早期診断早期診断が極めて重要である。

II. 1mL の尿で脳腫瘍を早期診断可能にするナノワイヤ技術

マイクロアレイ解析をおこなったところ、健康な人に比べて脳腫瘍患者さんの尿で発現変動を示していたマイクロ RNA の 73.4%は、その患者さんの脳腫瘍自体から分泌されたマイクロ RNA である。一方、脳腫瘍が分泌する特徴的なマイクロ RNA は健康な人の尿中にはほとんど含まれていない。これらの結果から、脳腫瘍が分泌した特徴的なマイクロ RNA を含む細胞外小胞体は、尿中に安定して存在していると考えられた。続いて、尿中のマイクロ RNA の脳腫瘍のバイオマーカーとしての可能性を検討するため、68 名の脳腫瘍患者さんと 66 人の健康な人の尿から、マイクロ RNA を抽出し、マイクロ RNA の発現の比較を行った。脳腫瘍患者さんのマイクロ RNA の

I. 脳腫瘍の悪性化を防ぐ最適解を導く数理モデル

化学療法や放射線治療を行うことで細胞あたりの悪性転化リスクが、手術のみを行った細胞に比べて 1.8~2.8 倍になる。続いて算出した各値を用いて、様々な症例において治療法および治療開始時期を様々に変化させて悪性化時期がどう変化するのかをシミュレーションした結果、悪性化を防ぐ理想的な治療法が異なる。小型の腫瘍(初回手術時体積が 50cm³以下)では、手術後速やかに化学療法と放射線治療を開始することが、悪性化を防ぐ最適な治療法である。一方、大型の腫瘍(手術時体積が 50cm³以上)では、染色体 1p/19q 共欠失を持たない腫瘍では手術後速やかに化学療法と放射線を開始することが最適な治療法でしたが、



組み合わせには特徴的な発現パターンがあることがわかり、別の 34 名の脳腫瘍患者さんと 34 名の健康な人をそのパターンをもとに分類したところ、99%の正確度（感度：100%、特異度：97%）で脳腫瘍を診断できることを発見した（図3）。さらに、非常に稀な脳腫瘍に罹患している患者さん 15 名も、この方法で判定を行ったところ、15 名全員が“脳腫瘍あり”と正しく判定された。今回、我々が作成したモデルは脳腫瘍の悪性度や大きさを問わず、正確に診断することができました。本研究から尿中のマイクロRNA は今後、脳腫瘍のバイオマーカーとして実用化される可能性が示された。

まとめ

本数理モデルによって、低悪性度 IDH 変異神経膠腫の各患者さんにとって、悪性化を防ぎ、結果として生存率を向上させる治療が提示できる。また、本解析アプローチは、新たな治療法や他の悪性腫瘍にも応用可能な汎用性の高いものである。また、尿による本ナノワイヤ診断技術は、肺がん等の他のがんも尿で高精度に診断できる可能性が高い。それを達成することで、わずかな尿を使用し、脳腫瘍だけではなく、多種類のがんを同時に発見できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Fan Shuya, Xu Jie, Osakada Yasuko, Hashimoto Katsunori, Takayama Kazuya, Natsume Atsushi, Hirano Masaki, Maruyama Atsushi, Fujitsuka Mamoru, Kawai Kumi, Kawai Kiyohiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Electron-transfer kinetics through nucleic acids untangled by single-molecular fluorescence blinking	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chem	6. 最初と最後の頁 3109 ~ 3119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chempr.2022.07.025	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 Atsushi Natsume, Yoshiki Arakawa, Yoshitaka Narita, Kazuhiko Sugiyama, Nobuhiro Hata, Yoshihiro Muragaki, Naoki Shinojima, Toshihiro Kumabe, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 The first-in-human phase I study of a brain-penetrant mutant IDH1 inhibitor DS-1001 in patients with recurrent or progressive IDH1-mutant gliomas	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology	6. 最初と最後の頁 326 ~ 336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/neuonc/noac155	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 Chalise Lushun, Kato Akira, Ohno Masasuke, Maeda Sachi, Yamamichi Akane, Kuramitsu Shunichiro, Shiina Satoshi, Takahashi Hiromi, Ozone Sachiko, Yamaguchi Junya, Kato Yukinari, Rockenbach Yumi, Natsume Atsushi, Todo Tomoki	4. 巻 26
2. 論文標題 Efficacy of cancer-specific anti-podoplanin CAR-T cells and oncolytic herpes virus G47delta combination therapy against glioblastoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Oncolytics	6. 最初と最後の頁 265 ~ 274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omto.2022.07.006	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 Chattrairat Kunanon, Yasui Takao, Suzuki Shunsuke, Natsume Atsushi, Nagashima Kazuki, Iida Mikiko, Zhang Min, Shimada Taisuke, Kato Akira, Aoki Kosuke, Ohka Fumiharu, Yamazaki Shintaro, Yanagida Takeshi, Baba Yoshinobu	4. 巻 17
2. 論文標題 All-in-One Nanowire Assay System for Capture and Analysis of Extracellular Vesicles from an ex Vivo Brain Tumor Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 2235 ~ 2244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.2c08526	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 Aoki K, Suzuki H, Yamamoto T, Yamamoto KN, Yamazaki S, Nakamura H, Takahashi M, Narita Y, Nakada M, Deguchi S, Mizoguchi M, Momii Y, Muragaki Y, Abe T, Akimoto J, Wakabayashi T, Saito R, Ogawa S, Haeno H, Natsume A.	4. 巻 81
2. 論文標題 Mathematical Modeling and Mutational Analysis Reveal Optimal Therapy to Prevent Malignant Transformation in Grade II IDH-Mutant Gliomas.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 4861-4873
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472	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 10.Yamazaki S, Ohka F, Hirano M, Shiraki Y, Motomura K, Tanahashi K, Tsujiuchi T, Motomura A, Aoki K, Shinjo K, Murofushi Y, Kitano Y, Maeda S, Kato A, Shimizu H, Yamaguchi J, Adilijiang A, Wakabayashi T, Saito R, Enomoto A, Kondo Y, Natsume A.	4. 巻 23
2. 論文標題 Newly Established Patient-derived Organoid Model of Intracranial Meningioma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuro Oncol.	6. 最初と最後の頁 1936-1948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/neuonc/noab155	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
研究分担者	大岡 史治 (Ohka Fumiharu) (10725724)	名古屋大学・医学系研究科・講師 (13901)	
研究分担者	日野原 邦彦 (Hinohara Kunihiko) (50549467)	名古屋大学・医学系研究科・特任准教授 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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	青木 恒介 (Aoki Kosuke) (10759773)	名古屋大学・医学系研究科・特任助教 (13901)	

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