

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16636

研究課題名（和文）グリオーマ遺伝子パネルによる日本人グリオーマ患者での網羅的ゲノム・エピゲノム解析

研究課題名（英文）Comprehensive genomic and epigenomic analysis in Japanese glioma patients using a glioma tailored gene panel.

研究代表者

比嘉 那優大（HIGA, Nayuta）

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：90792200

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：膠芽腫においては、欧米と比較して日本人はEGFR遺伝子変異の割合が低かったが、キナーゼドメインに変異を持つ割合が高いことを明らかにした。またEGFR遺伝子変化をもつ群が予後良好であることを見出した。また、PDGFRA増幅が膠芽腫の独立した予後不良因子であることを見出した。更にMGMTpメチル化と組み合わせることで、予後を層別化できることを発見し、実臨床に役立つ可能性を見出した。これらの知見から、カスタム遺伝子パネル検査を診断に組み込むことで、より高精度な診断が可能となり、予後及び治療反応性を予測する上でも有用であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では膠芽腫において、ドライバー遺伝子のプロファイルとドライバー遺伝子変化がもつ臨床的意義を明らかにした。正確な診断だけでなく患者個別の治療戦略を立てるためにもゲノム解析による日本人特有の遺伝子プロファイリングを明らかにすることは重要である。本研究の知見から、カスタム遺伝子パネル検査を診断に組み込むことで、より高精度な診断が可能となり、予後及び治療反応性を予測する上でも有用であった。

研究成果の概要（英文）：In glioblastoma, we found that EGFR gene mutation was less frequent in Japan than in other countries, however EGFR mutations in the kinase domain in glioblastoma were more frequent in Japan than in other countries. We also found that the group with EGFR gene alterations had a better prognosis. On the other hand, we found that PDGFRA amplification is an independent poor prognostic factor in glioblastoma. Furthermore, we found that PDGFRA combined with MGMTp methylation can stratify prognosis, which may be useful in clinical practice. These findings suggest that incorporating a custom gene panel test into the diagnosis of glioblastoma could provide a more accurate diagnosis and be useful in predicting prognosis and response to therapy.

研究分野：脳神経外科学分野

キーワード：遺伝子パネル PDGFRA EGFR 遺伝子プロファイル

### 1. 研究開始当初の背景

近年、遺伝子変異による新しい腫瘍分類の試みや、遺伝子変異に合わせて適切な薬物治療や集学的治療を採用する個別化医療が急速に発展している。2019年6月に FoundationOne CDx が ゲノムプロファイルと OncoGuide NCC オンコパネルシステムの2つの遺伝子パネル検査が保険収載された。この汎用遺伝子パネル検査では解析遺伝子数は多いが、グリオーマに特徴的に認められる遺伝子変異を効率的に検出できるようには設計されておらず、グリオーマにおける実臨床での応用にはまだ時間を要する。また、検査できるのは1回のみであり、検査を行うタイミングなど課題も多い。これらの問題を解決するために、我々はグリオーマ診断及び個別化医療に必要なドライバー遺伝子を含む50遺伝子の遺伝子パネル検査を作成した。正確な診断だけでなく患者個別の治療戦略を立てるためにもゲノム解析による日本人特有の遺伝子プロファイリングを明らかにすることは重要である。カスタム遺伝子パネル検査をグリオーマ診断に組み込むことで、より高精度な診断が可能となり、予後及び治療反応性を予測する上でも有用である可能性がある。本研究では日本人特有のドライバー遺伝子変異を明らかにした。

### 2. 研究の目的

グリオーマでもゲノム・エピゲノム異常の蓄積が発癌を誘発している可能性が指摘されており、遺伝子変異やDNAメチル化により治療反応性や予後に関与することが示唆されている。我々は、グリオーマ診断及び個別化医療に必要なドライバー遺伝子を含む50遺伝子のカスタム遺伝子パネル検査を作成した。カスタム遺伝子パネルを実臨床に組み込むことで、より高精度な診断が可能となり、予後及び治療反応性を予測する上でも有用である可能性がある。今後は日本人特有のゲノムプロファイルを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

我々が作成したカスタム遺伝子パネル検査の内訳は、グリオーマ関連ドライバー遺伝子と1p/19q codeletionを検出するための染色体1番、19番上の遺伝子から構成されており、全エクソン領域の99.95%をカバーするように設計した(図1)。次世代シーケンサー(イルミナ社、MiSeq)を使用して、遺伝子変異を検出するとともに、分子バーコード法を用いてコピー数変異を検出した。

膠芽腫の生命予後、無再発期間、グレード、年齢、性別、部位、MRI画像情報、腫瘍サイズなどの臨床的なファクターとカスタム遺伝子パネル検査から得られたゲノムデータとの関連を検討する。また、クラスタ-解析を行うことで、新たな腫瘍分類や予後、治療反応性、治療抵抗性に関連する遺伝子の検索を行った。

図1 カスタム遺伝子パネル検査

Target genes			
NF1	ACVR1	TNFRSF14 (1p36.32)	STK11 (19p13.3)
ATRX	HIST1H3B	MTOR (1p36.22)	GNA11 (19p13.3)
BRAF	HIST1H3C	SDHB (1p36.13)	MAP2K2 (19p13.3)
CDKN2A	TP53	ARID1A (1p36.11)	SMARCA4 (19p13.2)
CDKN2B	MAP2K4	MUTYH (1p34.1)	JAK3 (19p13.11)
EGFR	CDK12	JAK1 (1p31.3)	CCNE1 (19q12)
IDH1	ATM	FUBP1 (1p31.1)	AKT2 (19q13.2)
IDH2	CCND1	FAM46C (1p12)	AXL (19q13.2)
MDM2	CDK4	NOTCH2 (1p12)	CIC (19q13.2)
PDGFRA	CDK6	DDR2 (1q23.3)	PPP2R1A (19q13.41)
PTEN		NFASC (1q32.1)	
RB1		ESRRG (1q41)	
TERT		H3F3A (1q42.12)	
FGFR1		FH (1q43)	

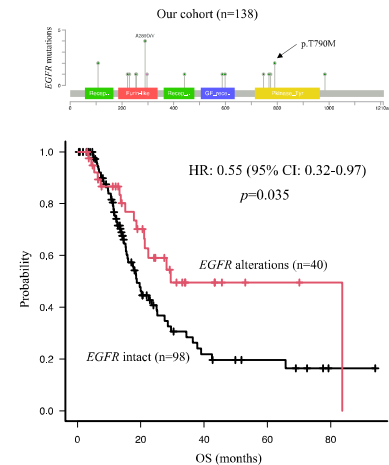
Chromosome 1
Chromosome 19

## 4. 研究成果

### (1) EGFR 遺伝子変化について

膠芽腫においては、欧米と比較して日本人は EGFR 遺伝子変異の割合が低かったが(29% vs 46%,  $p < 0.001$ )、キナーゼドメインに変異を持つ割合が高いことを明らかにした(25% vs 2.1%,  $p < 0.001$ )。また EGFR 遺伝子変化をもつ群が予後良好であることを見出した(図 2)。

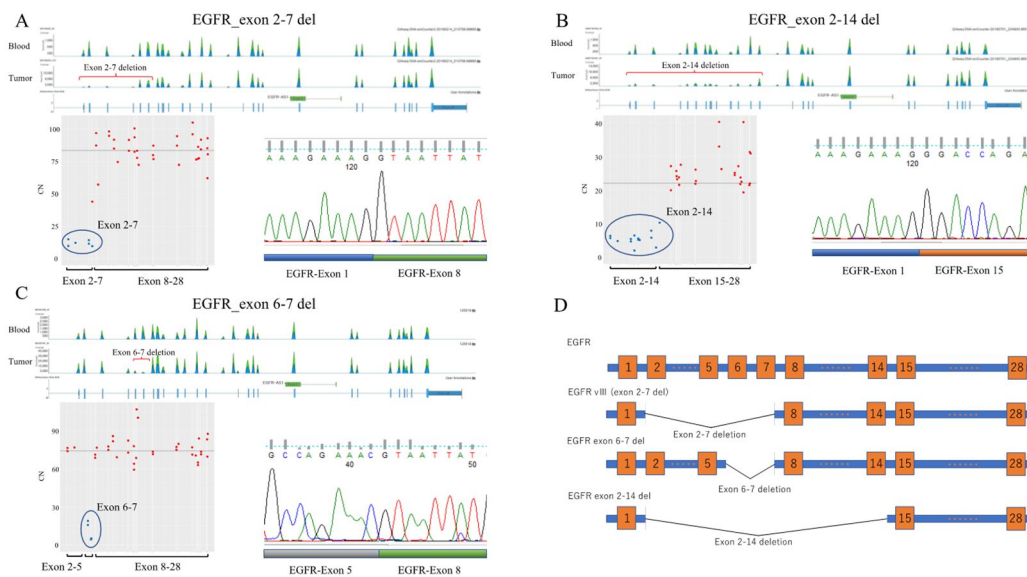
図 2 EGFR 遺伝子変化



### (2) EGFR 遺伝子バリエントの検出について

我々は、EGFR 遺伝子バリエントを EGFR 遺伝子のエクソン毎のコピー数を算出することで EGFR 遺伝子バリエントを検出することに成功した(図 3)。

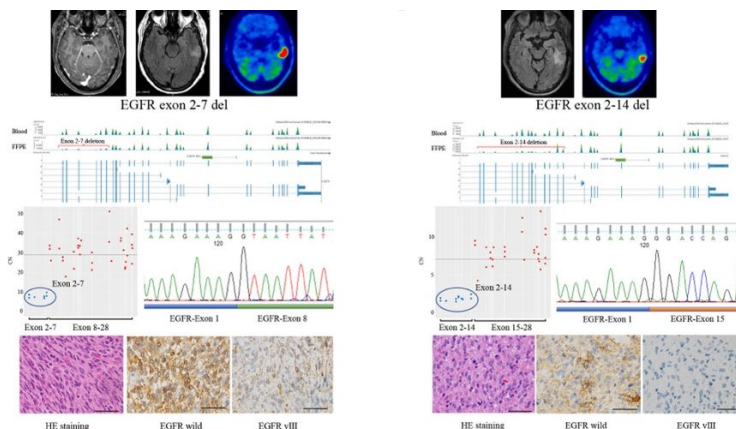
図 3 EGFR 遺伝子バリエントの検出



### (3) EGFR 遺伝子バリエントが変化する可能性について

初発時に EGFR exon 2-7 del を認めていた症例が、再発時には EGFR exon 2-14 del に変化した症例を認めた(図 4)。EGFR exon 2-7 del が再発時に消失することはこれまで報告されていたが、本症例はバリエントが消失するのではなく、他のバリエントに変化する可能性を示唆していた。

図 4 EGFR 遺伝子バリエントの変化について



(4) PDGFRA 遺伝子変化について

PDGFRA 増幅が膠芽腫の独立した予後不良因子であることを見出した(図 5)。また MGMTp メチル化と組み合わせることで、予後を層別化できることを発見し、実臨床に役立つ可能性を見出した(図 6)。

図 5 PDGFRA増幅は予後不良因子である

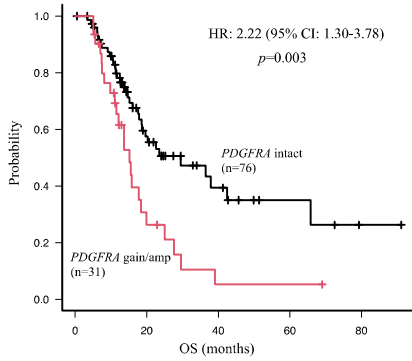
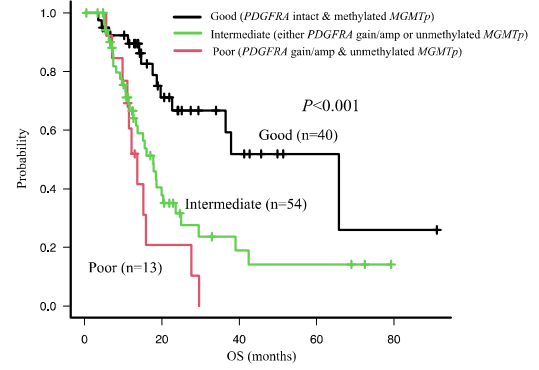


図 6 PDGFRAとMGMTpで予後を層別化



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Higa N, Akahane T, Hamada T, Yonezawa H, Uchida H, Makino R, Watanabe S, Takajo T, Yokoyama S, Kirishima M, Matsuo K, Fujio S, Hanaya R, Tanimoto A, Yoshimoto K	4. 巻 12
2. 論文標題 Distribution and favorable prognostic implication of genomic EGFR alterations in IDH-wildtype glioblastoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 49 ~ 60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.4939	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 Higa N, Akahane T, Yokoyama S, Yonezawa H, Uchida H, Takajo T, Otsuji R, Hamada T, Matsuo K, Kirishima M, Hata N, Hanaya R, Tanimoto A, Yoshimoto K	4. 巻 4
2. 論文標題 Prognostic impact of PDGFRA gain/amplification and MGMT promoter methylation status in patients with IDH wild-type glioblastoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/oaajnl/vdac097	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 Higa N, Akahane T, Yokoyama S, Yonezawa H, Uchida H, Fujio S, Kirishima M, Takigawa K, Hata N, Toh K, Yamamoto J, Hanaya R, Tanimoto A, Yoshimoto K	4. 巻 62
2. 論文標題 Molecular Genetic Profile of 300 Japanese Patients with Diffuse Gliomas Using a Glioma-tailored Gene Panel	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurologia medico-chirurgica	6. 最初と最後の頁 391 ~ 399
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2176/jns-nmc.2022-0103	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 比嘉 那優大、吉本 幸司	4. 巻 39
2. 論文標題 グリオーマの遺伝子パネル診断 : KBT-50	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CLINICAL NEUROSCIENCE	6. 最初と最後の頁 1585-1587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 IDH wild-type GBMにおけるPDGFRA amplificationの予後への影響
3. 学会等名 日本分子脳外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 IDH wild-type GBMにおけるPDGFRA amplificationおよびMGMTpメチル化の予後への影響
3. 学会等名 日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 カスタム遺伝子パネルを用いて解析したグリオーマ300例の遺伝子プロファイルとWHO2021分類に基づく再分類
3. 学会等名 日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 カスタムNGSパネルを用いたグリオーマ300例の解析-分子プロファイルの特徴と予後バイオマーカー-
3. 学会等名 日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 悪性グリオーマのEGFR遺伝子変異とスプライシングバリエーションの特徴
3. 学会等名 日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 日本人のhigh grade glioma患者における遺伝子変異の特徴
3. 学会等名 日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 悪性グリオーマのEGFR遺伝子プロファイルの特徴
3. 学会等名 日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 比嘉 那優大
2. 発表標題 日本人グリオーマ患者のEGFR遺伝子プロファイルの特徴
3. 学会等名 日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2021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	吉本 幸司 (YOSHIMOTO Koji)		
研究協力者	谷本 昭英 (TANIMOTO Akihide)		
研究協力者	内田 裕之 (UCHIDA Hiroyuki)		
研究協力者	米澤 大 (YONEZAWA Hajime)		
研究協力者	赤羽 俊章 (AKAHANE Toshiaki)		
研究協力者	高城 朋子 (TAKAJO Tomoko)		

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