

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861171

研究課題名(和文) 神経膠腫におけるテロメア関連遺伝子変化に基づいたバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Exploration for Telomere related biomarker of adult gliomas

研究代表者

有田 英之(Arita, Hideyuki)

大阪大学・医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：60570570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：神経膠腫は成人悪性脳腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍である。同一の診断でも様々な経過を示すため、より詳細に臨床経過を反映した分類が可能なバイオマーカーの探索が望まれてきた。我々は、近年の神経膠腫の遺伝子解析で発見されたテロメア関連遺伝子、特にTERTに着目し、国内のコホートを用い、臨床経過との関連を詳細に検討した。TERTのプロモーター変異は、従来本腫瘍で予後因子として知られていたIDH1/2やMGMTと組み合わせることで、神経膠腫をより詳細に分類することができることを明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Gliomas are the most common primary brain tumors in adults. They are divided into several histological subtypes base on histology, but each subtype contains clinically diverse phenotypes. We hypothesized that telomere-related genes, mainly TERT promoter, may be a prognostic marker for this tumor. We conducted genetic analysis for a Japanese cohort, and investigated the relationships between genetic alteration and clinical courses. Our results indicated that TERT promoter mutations are useful to define glioma subclasses with different clinical courses in combination with IDH1/2 or MGMT methylation status.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：Glioma telomere TERT IDH

1. 研究開始当初の背景

神経膠腫は成人の脳原発悪性脳腫瘍の中でもっとも多い疾患である。従来、病理組織所見によるWHO分類に基づいた診断を行い、治療されてきた。しかし、同じ診断であっても臨床経過が大きく異なるという「同一疾患内での不均一性」と、診断医・施設により病理診断の解離が生じるという「病理診断の再現性における問題」が指摘されてきた。

一方、近年、神経膠腫に対する網羅的ゲノム解析が行われ、本腫瘍における多数の遺伝子変異が明らかとなった。この遺伝子変異のうち、IDH1/2 変異を含む一部のものは、腫瘍の性質を大きく反映し、病理診断とも一定の関係があるだけでなく、臨床経過とも強く相関することがわかった。これらのことから、遺伝子変異を元にした分子分類が診断や予後分類に有用であると重要視され、2016年の中枢神経系腫瘍のWHO分類改訂に向け議論が盛んとなっていた。

研究代表者らは2013年に成人神経膠腫においてテロメラーゼ逆転写酵素遺伝子(TERT)のプロモーター領域の点変異(C250T, C228T 変異)が高頻度に認められ、TERTの発現を上昇させテロメラーゼの活性化の原因になっていることを報告した。またテロメラーゼによらない代替のテロメア維持機序であるALTに関わる遺伝子としてATRX(X-linked Alpha thalassemia and mental retardation)遺伝子の変異が報告されている。これらのテロメア関連遺伝子の変化は腫瘍の生物学的特性に大きく関わると考えられることから、診断や臨床経過を予測する、バイオマーカーとなるのではないかと考えられた。

2. 研究の目的

成人神経膠腫におけるテロメア関連遺伝子、特にTERTについて、病理診断、予後や治療経過などを含む臨床経過との比較を行い、バイオマーカーとして有用かどうかを検討した。

3. 研究の方法

国内多施設共同研究で収集された1000例超の成人神経膠腫症例コホートを対象とし、腫瘍のテロメア関連遺伝子を含む遺伝子解析と病理診断、臨床経過との比較をし検討した。

遺伝子解析

凍結検体抽出DNAを用い解析を行った。神経膠腫において近年重要視されているIDH1/2、TERT、H3F3A、BRAFなどの点変異の有無をサンガー法によるシーケンスもしくはパイロシーケンス法、1p19qコピー数をMLPA法または比較ゲノムハイブリダイゼーション法で、MGMTメチル化状態をパイロシーケンス法で評価した。

臨床情報

各症例における、年齢・性別・腫瘍発生部

位・生存期間・再発までの期間・治療内容などの情報を収集した

生存解析

全生存期間・無再発生存期間はカプランマヤー法でログランク検定を行うとともに、Cox回帰解析を単変量及び多変量で行い、各遺伝子変異、あるいは組み合わせとの関係という観点で検討した。

4. 研究成果

遺伝子解析と臨床経過に関してまず758例のデータセットで解析を行った(病理診断別:星細胞腫63例、退形成性星細胞腫で106例、膠芽腫で337例、乏突起星細胞腫67例、退形成性乏突起星細胞腫103例、乏突起膠腫47例、退形成性乏突起膠腫35例)。

遺伝子解析結果

IDH1/2変異は286例(38%)で、TERTプロモーター変異は115例(60%)、1p19q完全共欠失は148例(20%)、H3F3AのK27M変異は21例(全510例でのみ解析:4%)、BRAF V600E変異は12例(全506例で解析:2%)、MGMTプロモーターのメチル化は386例(全755例で解析:51%)で認められた。

病理診断との関係

IDH1/2変異はgrade II-IIIの神経膠腫で各病理組織型に置いて38%-96%に認められ、一方で膠芽腫では5%でのみ認められ、従来の報告と同様だった。一方、TERTプロモーター変異は膠芽腫で58%、乏突起膠腫系で74-83%と高頻度で認められる一方、grade II-IIIの星細胞腫では29-33%と頻度は少なかった。MGMTのプロモーターのメチル化は予後との関係を指摘されてきている膠芽腫においては38%に見られた。

ついで、IDHとTERTを組み合わせることで4群に分類し(Group A: IDH+/TERT+ 155例, Group B: IDH+/TERT- 131例, Group C: IDH-/TERT- 237例, Group D: IDH-/TERT+ 235例)さらに検討を行った。Group Aでは乏突起膠腫及び乏突起星細胞腫系が82%を占め、かつ93%に1p19q完全共欠失が見られた。Group Bではgrade II-IIIの星細胞腫系が45%、乏突起星細胞腫系が43%をしめた。Group Cでは半数以上(57%)で膠芽腫だったが、grade II-IIIの病理型が3%-16%を占めた。Group Dでは79%が膠芽腫、12%が退形成性星細胞腫と、そのほとんどを占めた。すなわち、乏突起膠腫系はGroup A、grade II-IIIの星細胞腫はGroup B、膠芽腫はGroup C、Dに集中していた。

これらより、病理組織型とIDH、TERTは強く関連があり、さらにIDHとTERTを組み合わせた4型の分類は組織型との関連がより明確だった。H3F3A K27M変異はGroup Cに集中していた。

予後との関係の検討

Group A-Dにおける予後の差を検討すべく、全生存期間(Overall Survival: OS)と無再発生存期間(Progression Free Survival: PFS)

を各群で検討した。Group A では OS の中央値には到達せず、PFS 中央値は 113.4 か月だった。Group B では OS 中央値には到達せず、PFS は 66.5 か月だった。Group C では OS 中央値は 25.3 か月、PFS は 11.7 か月だった。Group D では OS 中央値は 16.3 か月、PFS 中央値は 8.2 か月だった。ログランク検定で Group A-D の間で OS、PFS とともに有意な差があることが明らかとなった ($p < 0.0001$)。

IDH 野生型の腫瘍における予後因子が明らかでなかったことから、次に IDH 野生型の Grade II-III の神経膠腫と、膠芽腫のそれぞれで TERT が予後と関係するかどうかを検討した。IDH 野生型 Grade II-III の神経膠腫 (101 例) では TERT 野生型腫瘍は OS 中央値 34.8 か月、TERT 変異型腫瘍では中央値 16.1 か月と、後者の方が有意に予後が短く、膠芽腫 (Grade IV) と同様の予後を示すことが明らかとなった。一方、IDH 野生型の膠芽腫については、同様の治療背景をもつコホートで検討すべく、術後放射線治療 + テモゾロミドで治療を行った例を上記 758 例のコホートの中から 255 例を抽出、さらに 198 例を追加し計 453 例で検討を行った。OS 中央値は TERT 変異型腫瘍で 16.4 か月、野生型腫瘍で 20.8 か月であり、上記標準治療を受けた膠芽腫において TERT の変異は予後不良因子であると考えられた。さらに、OS に対し Cox 回帰解析を行った。単変量解析では TERT の変異は有意に予後不良因子であり、HR 1.37 ($p = 0.008$) だった。さらに年齢、性別、治療内容、MGMT メチル化状態などを組み込んだ多変量解析を行うと、MGMT メチル化状態との間に交互作用があることが明らかとなった ($p = 0.006$)。さらに TERT、MGMT の組み合わせで 4 群に分類し OS を比較したところ、TERT 変異型/MGMT メチル型 (88 例) と TERT 野生型/MGMT 非メチル型 (64 例) では予後に差はなかった (OS 中央値: 30.0 か月、26.5 か月)。一方、TERT 野生型/MGMT 非メチル化群 (126 例) で 18.8 か月、TERT 変異型/MGMT 非メチル化型 (175 例) で 14.6 か月と、MGMT 非メチル化腫瘍の間では TERT の有無により予後が異なることが明らかとなった。

これらより、テロメア関連遺伝子である TERT のプロモーター変異は成人神経膠腫において病理組織型と関係するだけでなく、IDH 変異の有無や MGMT メチル化状態と組み合わせることで、予後分類に有用なバイオマーカーであることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Arita H, Narita Y, Yoshida A, Hashimoto N, Yoshimine T, Ichimura K.: IDH1/2 mutation detection in gliomas. *Brain Tumor Pathology* 査読有 32 (2014) 79-82., doi:

10.1007/s10014-014-0197-x.

2. Arita H, Yamasaki K, Matsushita Y, Nakamura T, Shimokawa A, Takami H, Tanaka S, Mukasa A, Shirahata M, Shimizu S, Suzuki K, Saito K, Kobayashi K, Higuchi F, Uzuka T, Otani R, Tamura K, Sumita K, Ohno M, Miyakita Y, Kagawa N, Hashimoto N, Hatae R, Yoshimoto K, Shinojima N, Nakamura H, Kanemura Y, Okita Y, Kinoshita M, Ishibashi K, Shofuda T, Kodama Y, Mori K, Tomogane Y, Fukai J, Fujita K, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Moriuchi S, Nonaka M, Suzuki H, Shibuya M, Maehara T, Saito N, Nagane M, Kawahara N, Ueki K, Yoshimine T, Miyaoka E, Nishikawa R, Komori T, Narita Y, Ichimura K.: A combination of TERT promoter mutation and MGMT methylation status predicts clinically relevant subgroups of newly diagnosed glioblastomas. *Acta Neuropathologica Communications* 査読有 4 (2016): 79. doi: 10.1186/s40478-016-0351-2.

[学会発表] (計 12 件)

1. 有田英之 「Grade III グリオーマにおける TERT プロモーター変異のバイオマーカーとしての意義の検討」第 32 回日本脳腫瘍病理学会、2014 年 5 月 23 日、徳島

2. 有田英之 「悪性神経膠腫における TERT プロモーター変異の予後マーカーとしての意義」第 15 回 分子脳神経外科学会、2014 年 9 月 25 日、山形

3. 有田英之 「悪性神経膠腫における TERT プロモーター変異と分子分類」一般社団法人日本脳神経外科学会第 73 回学術総会、2014 年 10 月 11 日、東京

4. 有田英之 「TERT と IDH 遺伝子変異に基づく成人神経膠腫の分子分類」第 32 回日本脳腫瘍学会学術総会、2014 年 11 月 30 日、千葉

5. 有田英之 「成人神経膠腫の分子分類と病理診断、予後との関係～国内大規模多施設共同研究の報告」第 33 回日本脳腫瘍病理学会、2015 年 5 月 30 日、香川

6. 有田英之 「IDH と TERT による成人神経膠腫の分子分類～国内多施設大規模コホートの解析より」一般社団法人日本脳神経外科学会第 73 回学術総会、2015 年 10 月 14 日、札幌

7. 有田英之 「IDH と TERT による成人神経膠腫の分子分類～国内多施設大規模コホートの解析からの追跡報告」第 33 回日本脳腫瘍学会学術総会、2015 年 12 月 8 日、京都

8. Arita H, "Molecular classification based on IDH1/2 and TERT promoter well-defines subgroups with different outcome in adult diffuse gliomas: A report from Glioma Molecular Classification Consortium" 20th annual scientific meeting and education day of the Society

for Neuro-Oncology, Nov 22, 2015, San Antonio, USA

9. Arita H, "Molecular classification base on IDH and TERT identified four clinically distinct subclasses: A study of Glioma Molecular Classification Consortium" 21th International Conference on Brain Tumor Research and Treatment, Apr 12, 2016, Okinawa

10. Arita H, "TERT promoter mutation is a poor prognostic marker for GBMs and interacts with MGMT methylation status." 21st Annual Scientific Meeting and Education day of Society for Neuro-Oncology, Nov 18, 2016, Scottsdale, USA

11. 有田英之「膠芽腫における分子マーカーの予後因子としての意義～国内多施設大規模コホートの解析からの報告」一般社団法人日本脳神経外科学会第 75 回学術総会、2016 年 10 月 1 日、福岡

12. 有田英之「膠芽腫における TERT プロモーター変異と MGMT メチル化状態の予後因子としての意義」第 34 回日本脳腫瘍学会学術総会、2016 年 12 月 6 日、山梨

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有田 英之 (ARITA Hideyuki)

大阪大学大学院医学系研究科脳神経外科・特任助教

研究者番号：60570570

(2) 研究協力者

市村幸一 (ICHIMURA Koichi)

山崎夏維 (YAMASAKI Kai)

松下裕子 (MATSUSHITA Yuko)

成田善孝 (NARITA Yoshitaka)