

大規模ゲノム解析から明らかとなった 低悪性度神経膠腫における遺伝学的予後予測因子

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・門松 健治）脳神経外科学の夏目 敦至（なつめ あつし）准教授、青木 恒介（あおき こうすけ）特任助教（筆頭著者）、京都大学大学院医学研究科の小川 誠司（おがわ せいし）教授らの研究グループは、大規模ゲノム解析の結果を用いて、低悪性度神経膠腫各群にて特定の遺伝子変異を持つ腫瘍では、患者予後が悪いことを明らかにしました。本研究は、熊本大学、九州大学、大分大学、東京女子医科大学との共同研究で行われました。

低悪性度神経膠腫（WHO grade II もしくは III）は、進行は緩徐ですが、浸潤性に増殖する原発性脳腫瘍です。低悪性度神経膠腫において、遺伝子異常と患者予後の関係について、網羅的な解析はほとんど報告されていませんでした。本研究は、次世代シーケンサー等を用いて網羅的に遺伝子異常の解析を行った 308 例の日本の症例と、公開データである The Cancer Genome Atlas の症例を対象とし、昨年改定された WHO 分類に従い、各 subtype に分けた上で、遺伝子異常が患者予後に与える影響について検討しました。解析の結果、「Oligodendroglioma、IDH-mutant and 1p19q-codeleted では *NOTCH1* 変異を持つこと、手術で腫瘍を全摘出できなかったこと」が、「Astrocytoma、IDH-mutant では *PIK3R1* 変異、もしくは、retinoblastoma (RB) 経路に関わる遺伝子群（*CDK4*、*CDKN2A*、*RB1*）に異常を持つこと」が、「IDH 野生型低悪性度神経膠腫では *TERT* プロモーター変異、染色体 7p 増幅、10q 欠損をすべて持つこと」、そして「WHO grade III が患者の予後不良と有意な関連があること」が分かりました。また、IDH 野生型低悪性度神経膠腫において、同定した因子を一つ以上持つ群（高リスク群）と因子を持たない群（低リスク群）は、患者の生存期間や年齢、DNA メチル化のパターンなどの点において大きく異なっており、生物学的に異なる腫瘍であることが示唆されました。本研究成果は、低悪性度神経膠腫患者の予後を、より正確に予測し、最適な治療を実践していく上で、とても重要な知見と考えます。

本研究は、科研費「若手研究（スタートアップ）」「基盤研究 B」、「新学術領域研究」、日本学術振興会「最先端研究支援プログラム」、ブレインサイエンス振興財団の支援を受けて実施され、本研究成果は、国際科学誌「*Neuro-Oncology*」（2017 年 7 月 18 日付けの電子版）に掲載されました。

大規模ゲノム解析から明らかとなった 低悪性度神経膠腫における遺伝学的予後予測因子

ポイント

- 低悪性度神経膠腫では、遺伝子異常の数が多い方が、腫瘍の悪性度（WHO grade）が高く、患者の生命予後が悪いことを示しました。
- 多数検体に対して行った大規模ゲノム解析の結果から、低悪性度神経膠腫の各 subtype において特定の遺伝子異常を持つものは患者の生命予後が悪いことを明らかにしました。多くの subtype において、これらの遺伝子異常を持つかどうかは、腫瘍の悪性度（WHO grade）よりも正確に患者予後を反映しており、それぞれの患者に合わせた治療を行っていく上で、非常に重要な知見であると言えます。今回の結果は、National Cancer Institute（アメリカ国立がん研究所）の twitter において、「beyond WHO grading（WHO grade を超える）」として紹介されました。
- IDH 野生型低悪性度神経膠腫においては、同定した予後不良因子を持つ群と持たない群は遺伝学的にも臨床的にも明瞭に異なっており、生物学的に異なる腫瘍であることが示唆されました。

1. 背景

WHO grade II もしくは III の神経膠腫（低悪性度神経膠腫）は緩徐に進行しますが、浸潤性に増殖する原発性脳腫瘍です。研究グループは以前、低悪性度神経膠腫の遺伝子異常の全容を明らかにするため、日本の症例とアメリカの The Cancer Genome Atlas (TCGA) にて公開されているデータを合わせた低悪性度神経膠腫症例に対し、全エクソンもしくは標的シーケンスによる遺伝子変異解析と SNP array によるコピー数解析を行い、低悪性度神経膠腫が *IDH1* または *IDH2* (*IDH1/2*) 変異と染色体 1p と 19q (1p/19q) 共欠損の有無により、臨床的にも遺伝学的にも明瞭に異なる 3 つの subtype へ分けられることを報告しています (Suzuki and Aoki et al, *Nat Genet*, 2015)。翌年改定された WHO 分類では、それらの結果を踏まえ、低悪性度神経膠腫の診断には病理診断と共に遺伝子診断を用いることとなりました。低悪性度神経膠腫において、十分な観察期間のある多数検体を用い、各 subtype に分けた上で、網羅的に遺伝子異常と患者予後との関係を解析したものは報告されていませんでした。今回研究グループは、先の解析により、遺伝子異常の全容が明らかとなっている日本と TCGA の症例を対象として、遺伝子異常が低悪性度神経膠腫の予後に与える影響について検討しました。その際、改定された WHO 分類に従い *IDH1/2* 変異と 1p/19 共欠損を持つもの (Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-code1)、*IDH1/2* 変異を持ち 1p/19q 共欠損を持たないもの (Astrocytoma IDH-mutant)、*IDH1/2* 変異を持たないもの (IDH 野生型低悪性度神経膠腫) に分けて検討を行っています。また、低悪性度神経膠腫と、WHO grade IV の神経膠腫である膠芽腫は、遺伝学的異常や臨床的な違いが明瞭でない部分があるため、今回、低悪性度神経膠腫の中で予後不良な群を同定した上で、膠芽腫と臨床的、遺伝学的な面から比較を行いました。

2. 研究成果

a) 遺伝子異常と臨床的病理学的特徴の関連

染色体のコピー数変化が多い症例（上位 25%）では、少ない症例に比べ有意に患者予後が不良でありました（図 1A）。また、すべての subtype において、WHO grade II に比べ grade III では有意

に多数のコピー数変化が認められました(図 1B)。TCGA コホートでも、コピー数変化が多い症例(上位 25%)では、少ない症例に比べ有意に患者予後が不良であり(図 1C)、Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-code1 を除くすべての subtype において、WHO grade II に比べ grade III では有意に多数のコピー数変化が認められました(図 1D)。次に、全エクソンシーケンス解析の結果から、遺伝子変異数と臨床的因子との比較を行いました。日本のコホートでは、全エクソンシーケンス解析を少数でしか行っていないため(52 例)、TCGA コホート(407 例)と合わせて解析を行いました。その結果、遺伝子変異の多い症例(上位 25%)では、少ない症例に比べて有意に患者予後が不良であり(図 1E)、すべての subtype で、WHO grade II に比べ grade III では有意に多数の遺伝子変異が認められました(図 1F)。これらの結果から、コピー数変化や遺伝子変異の数は、LGG の悪性化と関連していると推察されました。

b) 遺伝子異常と患者予後との関係

生存期間と遺伝子異常との関連を解析したところ、「Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-code1 では手術摘出度と *NOTCH1* 変異」が、「Astrocytoma IDH-mutant では *PIK3R1* 変異と retinoblastoma (RB) 経路に関わる遺伝子群(*CDK4*, *CDKN2A*, *RB1*)に異常を持つこと」が、「IDH 野生型低悪性度神経膠腫では *TERT* プロモーター変異、染色体 7p 増幅、10q 欠損すべてを持つこと」と「WHO grade が患者予後不良と有意な関連があること」が分かりました(図 2A, C, E)。TCGA コホートで結果を確認したところ、多くの予後不良因子が日本のコホート同様に有意差を示していましたが、Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-code1 における手術摘出度と *NOTCH1* 変異は有意差を認めませんでした(図 2B)。TCGA コホートは日本のコホートに比べ、観察期間がずっと短期間であった(平均観察期間 19 ヶ月)ことが影響しているかもしれません。

c) 膠芽腫との比較

今回同定した予後不良因子を一つ以上持つ Astrocytoma IDH-mutant の予後は極めて不良であり、IDH 変異型膠芽腫の予後と有意な差を認めないほどでした(図 2D)。IDH 野生型低悪性度神経膠腫において、同定した予後不良因子を一つ以上持つ群(高リスク群)は、IDH 野生型膠芽腫と比較して生存期間中央値が 6 ヶ月長い程度の違いしか認められませんでした。因子を持たない群(低リスク群)は、明らかに予後良好でした(図 2F)。低リスク群は患者予後が良好であるだけでなく、遺伝子異常や DNA メチル化のパターン、発症年齢についても、高リスク群や IDH 野生型膠芽腫とは明瞭に異なっていました。これらのことから、この群は臨床的にも遺伝学的にも IDH 野生型膠芽腫とは明瞭に異なっており、IDH 野生型低悪性度神経膠腫の低リスク群と高リスク群は、生物学的に異なる腫瘍であることが示唆されました。

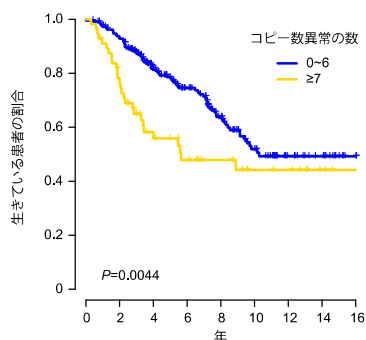
3. 今後の展開

今回の解析により、低悪性度神経膠腫各 subtype における複数の遺伝学的、臨床的予後不良因子を同定することができました。多くの subtype では、今回、同定した予後不良因子を用いることで、現在、腫瘍の悪性度の指標として用いられている WHO grade よりも正確に患者予後を予測することが可能となります。また、IDH 野生型低悪性度神経膠腫においては、同定した予後不良因子を持つ群と持たない群は生物学的に異なる腫瘍であることが示唆され、IDH 野生型低悪性度神経膠腫を、より正確に理解する大きな助けとなると考えられます。その一方で、TCGA コホートの観察期間が短

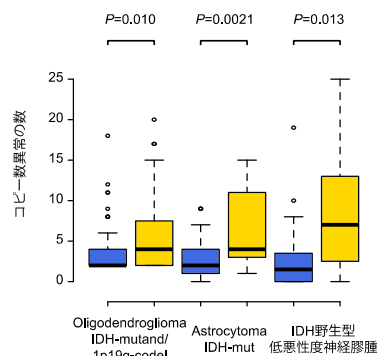
いため、特に平均生存期間の長いOligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codeledでは、正確な予後因子の抽出が行えなかった可能性があるため、今後、新たなコホートで再解析されることが求められます。

図 1

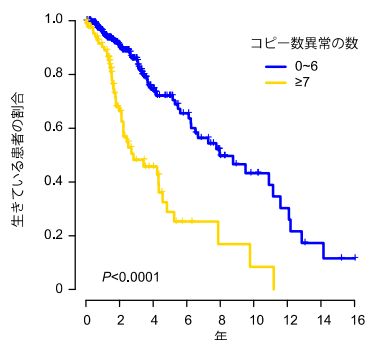
A. コピー数異常の数と患者予後 (日本)



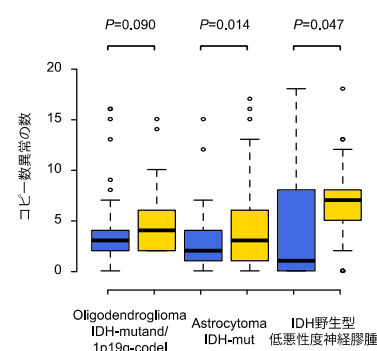
B. コピー数異常の数とWHO grade (日本)



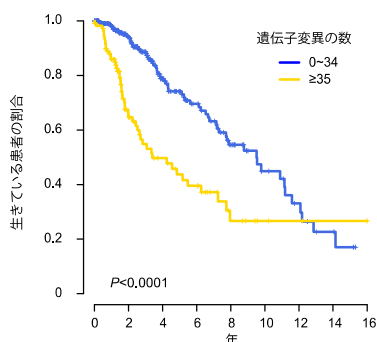
C. コピー数異常の数と患者予後 (TCGA)



D. コピー数異常の数とWHO grade (TCGA)



E. 遺伝子変異の数と患者予後 (日本とTCGA)



F. 遺伝子異常の数とWHO grade (日本とTCGA)

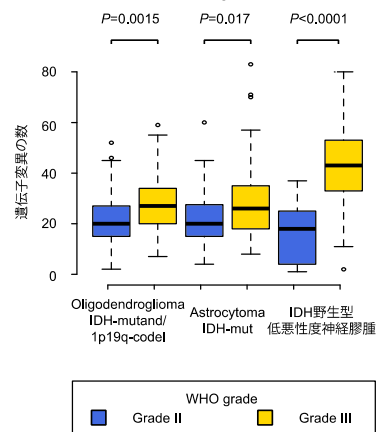


図 1. 遺伝子異常と臨床的病理学的特徴の関連

- (A) 日本のコホートで、コピー数変化が多い症例（上位 25%）と少ない症例に分けた生存曲線
- (B) 日本のコホートで、WHO grade とコピー数変化の関連
- (C) TCGA コホートで、コピー数変化が多い症例（上位 25%）と少ない症例に分けた生存曲線
- (D) TCGA コホートで、WHO grade とコピー数変化の関連

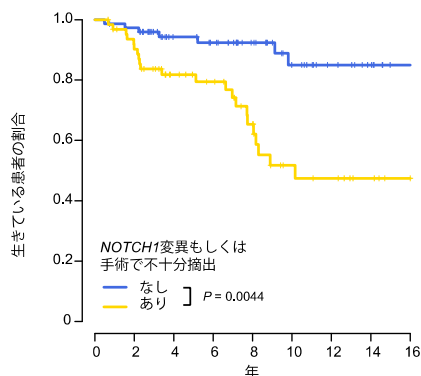
(E) 日本と TCGA コホートで、遺伝子変異数が多い症例（上位 25%）と少ない症例に分けた生存曲線

(F) 日本と TCGA コホートで、WHO grade とコピー数変化の関連

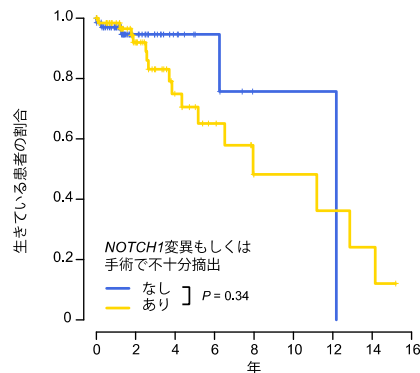
* P とは P value のことで、0.05 より値が小さい時に、統計的に差があると考えます。

図 2

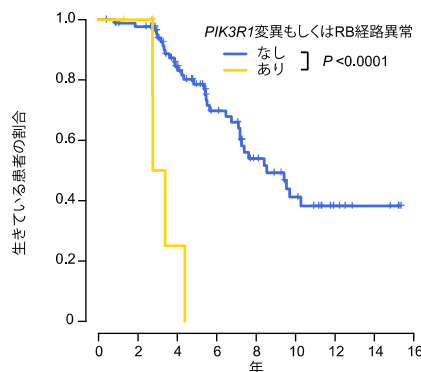
A. Oligodendroglioma
IDH-mutant/1p19q-codeletion (日本)



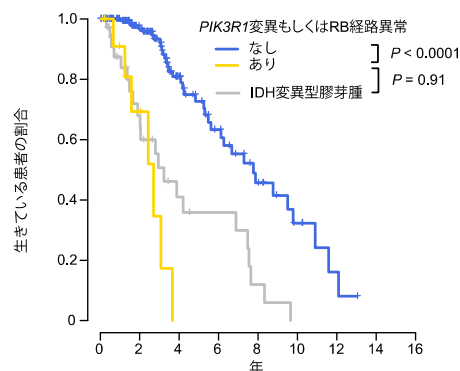
B. Oligodendroglioma
IDH-mutant/1p19q-codeletion (TCGA)



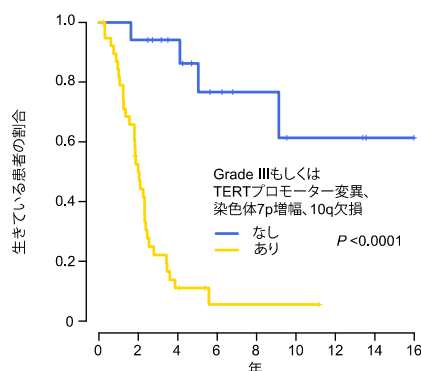
C. Astrocytoma IDH-mutant (日本)



D. Astrocytoma IDH-mutant (TCGA)



E. IDH wild-type low-grade glioma (日本)



F. IDH wild-type low-grade glioma (TCGA)

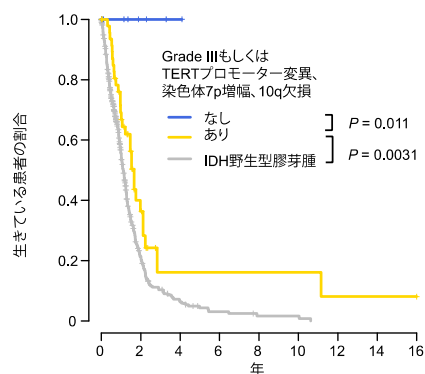


図 2. 同定した予後不良因子の有無によって分けた生存曲線

(A) 日本のコホートの Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codeletion

(B) TCGA コホートの Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codeletion

(C) 日本のコホートの Astrocytoma IDH-mutant

(D) TCGA コホートの Astrocytoma IDH-mutant。比較のため IDH 変異型膠芽腫も一緒に載せていま

す。

(E) 日本のコホートの IDH 野生型低悪性度神経膠腫

(F) TCGA コホートの IDH 野生型低悪性度神経膠腫。比較のため IDH 野生型膠芽腫も一緒に載せています。

4. 用語説明

- The Cancer Genome Atlas: 2006 年から開始された米国国家プロジェクト。20 種類以上のがんについて、遺伝子変異や遺伝子発現など網羅的解析を行い、その結果を公開している。
- 患者予後: 病気になった方の医学的見通し。
- Oligodendroglioma、IDH-mutant and 1p19q-codeled: 病理学的に星状細胞腫や乏突起細胞腫と診断された腫瘍の中で、*IDH1/2* 変異と 1p/19q 共欠損を持つもの。
- Astrocytoma、IDH-mutant: 病理学的に星状細胞腫や乏突起細胞腫と診断された腫瘍の中で、*IDH1/2* 変異は持つが 1p/19q 共欠損を持たないもの。
- IDH 野生型: *IDH1/2* が遺伝子変異していない腫瘍のこと。

5. 発表雑誌

Kosuke Aoki^{1,2}, Hideo Nakamura³, Hiromichi Suzuki^{1,2}, Keitaro Matsuo⁴, Keisuke Kataoka², Teppei Shimamura⁵, Kazuya Motomura¹, Fumiharu Ohka¹, Satoshi Shiina¹, Takashi Yamamoto¹, Yasunobu Nagata², Tetsuichi Yoshizato², Masahiro Mizoguchi⁶, Tatsuya Abe⁷, Yasutomo Momii⁷, Yoshihiro Muragaki⁸, Reiko Watanabe⁹, Ichiro Ito⁹, Masashi Sanada¹⁰, Hironori Yajima¹¹, Naoya Morita¹¹, Ichiro Takeuchi¹¹, Satoru Miyano¹², Toshihiko Wakabayashi¹, Seishi Ogawa² and Atsushi Natsume¹

所属名:

1. 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科
2. 京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学
3. 熊本大学脳神経外科分野
4. 愛知県がんセンター研究所遺伝子医療研究部
5. 名古屋大学大学院医学系研究科システム生物学分野
6. 九州大学脳神経外科
7. 大分大学脳神経外科
8. 東京女子医科大学脳神経外科
9. 静岡県立静岡がんセンター病理診断科
10. 名古屋医療センター臨床研究センター
11. 名古屋工業大学情報工学専攻知能情報分野
12. 東京大学医学研究所ヒトゲノム解析センター

" Prognostic relevance of genetic alterations in diffuse lower-grade gliomas "

Neuro-Oncology (英国時間 2018 年 7 月 18 日付けの電子版に掲載)

DOI : <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox132>