

学内グラント 終了時報告書

平成19年度 学内グラント報告書

乏突起膠腫の診断と治療反応性の予測に有用な 分子マーカーの探索

研究代表者 安達 淳一 (埼玉医科大学 医学部 脳神経外科)

研究分担者 西川 亮*, 松谷 雅生*

緒言

乏突起膠腫 (oligodendroglioma) 及び退形成性乏突起膠腫 (anaplastic oligodendroglioma) の原発性脳腫瘍の中における頻度は「脳腫瘍全国集計調査報告書 (10版)」によると1.2%で、神経膠腫 (glioma) に占める頻度は4.7%である¹⁾。米国の脳腫瘍登録 (CBTRUS; The Central Brain Tumor Registry of the United States, 1990-1994) では原発性脳腫瘍の3.2%, 神経膠腫の6.6%と報告されている²⁾。

最近の遺伝子解析技術は本腫瘍の分子病理学に画期的な知見をもたらした。すなわち、oligodendrogliomaでは astrocytic tumor と異なり TP53 遺伝子異常の頻度が少ない (<10%) こと、染色体 1p, 19q の欠失が約40~80%に見られるということである³⁾。そして、この染色体 1p と 19q が同時に欠失している oligodendroglioma は予後が良いと言われている⁴⁾。

しかしながら、1p と 19q の共欠失している oligodendroglioma の中には早期に再発をきたすものもある。そのような腫瘍に特徴的な染色体・遺伝子異常を見い出すため本研究を行った。

材料と方法

2000年以降現在まで、当科で治療を行った染色体 1p 及び 19q loss を認める oligodendroglioma (OL) 6例、anaplastic oligodendroglioma (AO) 8例を対象とした (Table 1)。治療は摘出手術の後に、初期治療として全例で放射線照射 (60Gy) と化学療法 (ACNU + VCR + Procarbazine を8コース) を行った。OL2例とAO2例が初期治療中ないし終了直後に再発を来した。これらの腫瘍に対して、FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) 法とCGH (Comparative genomic hybridization)-Array を用いたゲノムワイドな手法で遺

* 埼玉医科大学 医学部 脳神経外科

伝子異常の解析を施行した。FISH の probe としては、1p (1p36.3), 19q (19q13.3), EGFR (7p12), 10q (10q23.3) 上の probe を Bacterial artificial chromosome (BAC) から Nick translation 法を用いて作成した。CGH-Array 法については GenoSensor Array 300 (Vysis) を用い、再発4例中3例と、非再発ではOL3例とAO2例に施行した。また、EGFRタンパク質の発現に関しては免疫組織染色も行った。

結果

再発 OL, AO とも全例でEGFR遺伝子の増幅が見られた (Table 2, 3, Fig.1, 3)。しかし、この内でEGFRの免疫染色で明らかに陽性を呈した例は2例であった (Fig.2, Table 4)。また、再発AOの2例とも染色体10qのlossを認めた (Fig.2, Table 4)。これらの異常は非再発OLやAOでは見られなかった。

考察

形態的に典型的な1p及び19q lossを有する oligodendroglioma であっても、EGFR遺伝子増幅や10q lossなどのGlioblastomaで多く見られる遺伝子異常を持つ症例が早期に再発するものと思われ、このような症例は注意深いフォローアップが必要と思われた。現在、さらに症例を集積し統計学的解析を行う予定である。

FISH法は免疫染色で判然としないEGFR遺伝子の微妙な増幅を検出できる優れた方法であった。

文献

- 1) The Committee of Brain Tumor Registry of Japan : Report of brain tumor registry of Japan (1969-1993), Neurologia Medico-chirurgica, 40 (Suppl), 2000.
- 2) Surawicz TS, McCarthy BJ, Kupelian V, Jukich PJ, Bruner JM, Davis FG.

Descriptive epidemiology of primary brain and CNS tumors: Results from the Central Brain Tumor Registry of the United States, 1990-1994, *Neuro-Oncology* 1 : 14-25,1999.

- 3) Reifenberger G, Kros JM, Louis DN, Collins VP: Oligodendroglioma. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK(eds), Lyon, IARC Press, 2007.
- 4) Kleihues P, Cavenee WK (eds) : Pathology and genetics of tumours of the nervous system. Lyon, IARC Press, 2000.

研究成果リスト

- Matsutani M, Adachi J and Nishikawa R. MRI findings of oligodendroglial tumors. 5th. Meeting of the Asian Society for Neuro-oncology, Istanbul, Turkey. November 4, 2007.
- Adachi J, Uemiya N, Totake K, Mishima K, Suzuki T, Matsutani M and Nishikawa R. Genetic profile in 1p- and 19q-deleted oligodendroglioma with short relapse-free survival. The 17th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy, Hakodate, Japan. June 10, 2008.

Table 1. Oligodendrogliomas with 1p and 19q chromosomal loss

Cases	Age (Y)	Sex	Site	% of removal	Outcome	OS (mo)	PFS (mo)
OL-1	62	Male	Lt. frontal	50	PD	48	35
OL-2	61	Male	Blt. frontal	70	ST	37	36
OL-3	25	Female	Lt. frontal	95	CR	26	25
OL-4	33	Male	Lt. frontal	80	PD	31	23
OL-5	52	Male	Lt. frontal	90	ST	28	27
OL-8	41	Male	Lt. parietal	20	ST	15	15
AO-1	62	Male	Rt. frontal	95	ST	84	83
AO-2	64	Male	Lt. frontal	95	PD	35	12
AO-3	47	Female	Rt. frontal	100	CR	63	62
AO-4	42	Male	Lt. frontal	100	CR	69	68
AO-6	46	Male	Rt. frontal	95	PD	27	20
AO-7	27	Male	Rt. frontal	100	CR	15	14
AO-8	45	Female	Rt. frontal	90	ST	9	8
AO-9	42	Female	Lt. parietal	30	ST	7	6

OL: Oligodendroglioma grade 2 AO : Anaplastic oligodendroglioma

 Recurrent cases

Table 2. OL cases

	Name	Location	Genosensor Report (287 of 287 targets)		
			Mass Ratio Mean	CV(%)	Mean Ref (c/s)
OL-1	IL6	7p21	1.07	0.8	133.8
	EGFR	7p12.3-p12.1	1.34	4.4	214.2
	EGR2	10q21.3	1.07	2.1	287.7
	PTEN	10q23.3	0.99	2.1	59.9
	FGFR2	10q26	1.12	1.6	237.9
	DMBT1	10q25.3-q26.	1.17	0.9	230
OL-2	IL6	7p21	1.06	1.1	181.9
	EGFR	7p12.3-p12.1	1.02	3	178.7
	EGR2	10q21.3	1.01	2.9	279.3
	PTEN	10q23.3	0.99	0.9	72.7
	FGFR2	10q26	1.08	5.1	272.6
	DMBT1	10q25.3-q26.	1.06	0.9	260.5
OL-3	IL6	7p21	0.98	2.8	61.8
	EGFR	7p12.3-p12.1	1.11	2.3	78.4
	EGR2	10q21.3	1.1	2.9	95.6
	PTEN	10q23.3	0.98	3.1	28.6
	FGFR2	10q26	1.12	2.1	129.9
	DMBT1	10q25.3-q26.	1.17	1.2	145.9
OL-4					
OL-5	IL6	7p21	1	0.4	169.6
	EGFR	7p12.3-p12.1	0.99	0.6	420
	EGR2	10q21.3	0.94	2.1	393.1
	PTEN	10q23.3	0.97	4.3	107.8
	FGFR2	10q26	1.01	0.5	292.6
	DMBT1	10q25.3-q26.	1.08	0.7	366.3

- Adachi J, Uemiya N, Totake K, Mishima K, Suzuki T, Matsutani M, Nishikawa R. Genetic profile in 1p-and 19q-deleted oligodendroglioma with short relapse-free survival. 8th. Congress of the European Association for Neuro-Oncology (EANO), Barcelona, Spain. September 13, 2008.

Table 3. AO cases

	Name	Location	Genosensor Report (287 of 287 targets)		
			Mass Ratio Mean	CV(%)	Mean Ref (c/s)
AO-2	IL6	7p21	1.03	1.4	113.5
	EGFR	7p12.3-p12.1	10.09	6.2	162.7
	EGR2	10q21.3	0.86	0.3	177.4
	PTEN	10q23.3	0.67	1.5	43.9
	FGFR2	10q26	0.72	1.8	226.1
	DMBT1	10q25.3-q26.	0.82	0.5	239.5
AO-6	IL6	7p21	1.08	4.7	27.4
	EGFR	7p12.3-p12.1	1.47	4.9	107.1
	EGR2	10q21.3	1.27	2.8	38.6
	PTEN	10q23.3	0.53	7.8	147.2
	FGFR2	10q26	1.07	7.3	60.5
	DMBT1	10q25.3-q26.	1.24	1.5	88.2
AO-8	IL6	7p21	1.36	1.3	124.2
	EGFR	7p12.3-p12.1	1.34	1	195.4
	EGR2	10q21.3	0.96	1.7	263.8
	PTEN	10q23.3	0.98	1.1	46.9
	FGFR2	10q26	1.02	0.2	222
	DMBT1	10q25.3-q26.	1.09	0.6	257.1
AO-9	IL6	7p21	0.98	1.8	185.2
	EGFR	7p12.3-p12.1	1.08	0.8	301.8
	EGR2	10q21.3	0.94	1.9	294.5
	PTEN	10q23.3	0.99	1.8	55.3
	FGFR2	10q26	0.92	0.9	285.2
	DMBT1	10q25.3-q26.	0.99	0.8	360.1

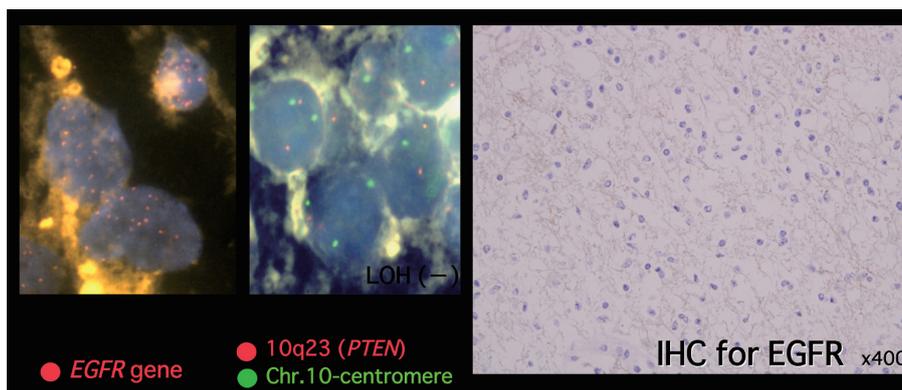


Fig. 1. OL-4.

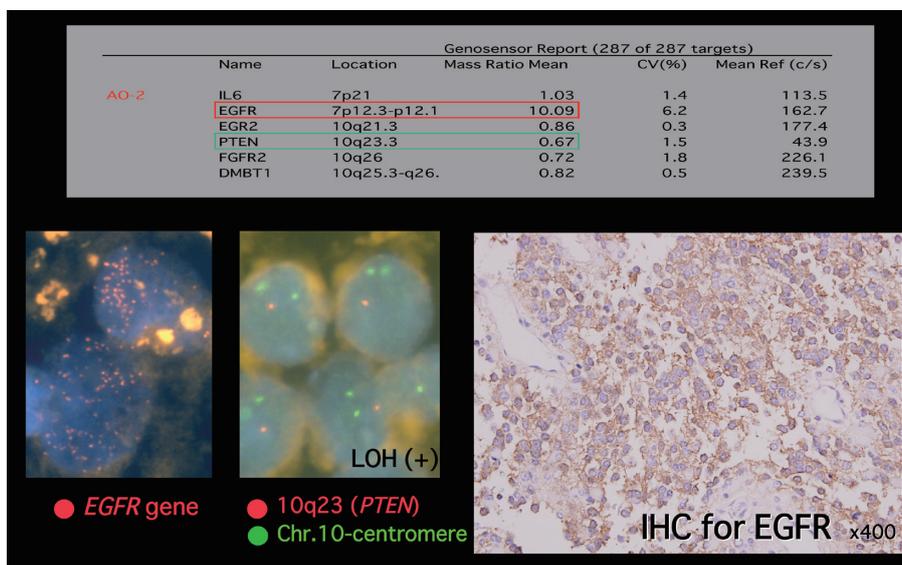


Fig. 2. AO-2.

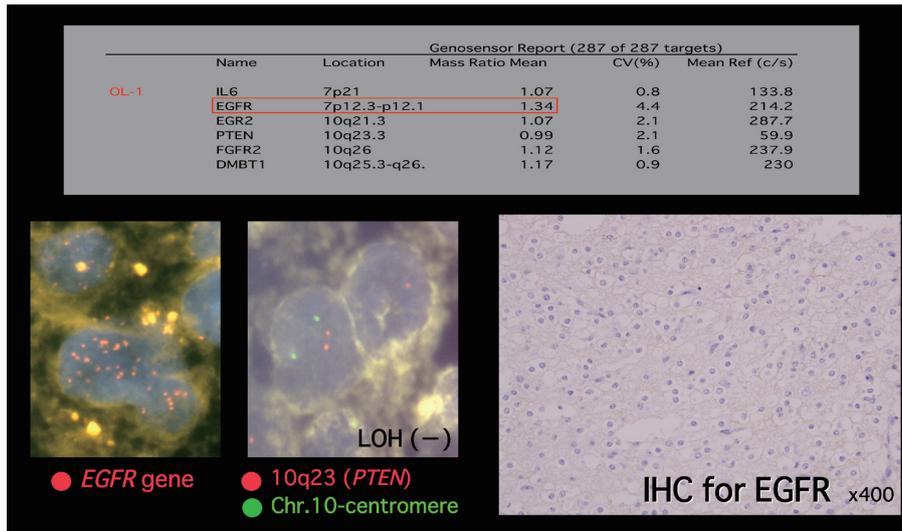


Fig. 3. OL-1.

Table 4. Summary of cases

Cases	Age (Y)	Sex	Site	% of removal	Outcome	EGFR	10q (PTEN)
OL-1	62	Male	Lt. frontal	50	PD	AMP	R
OL-2	61	Male	Blt. frontal	70	ST	NA	R
OL-3	25	Female	Lt. frontal	95	CR	NA	R
OL-4	33	Male	Lt. frontal	80	PD	AMP	R
OL-5	52	Male	Lt. frontal	90	ST	NA	R
OL-8	41	Male	Lt.parietal	20	ST	NA	R
AO-1	62	Male	Rt. frontal	95	ST	NA	R
AO-2	64	Male	Lt. frontal	95	PD	AMP	LOH
AO-3	47	Female	Rt. frontal	100	CR	NA	R
AO-4	42	Male	Lt. frontal	100	CR	NA	R
AO-6	46	Male	Rt. frontal	95	PD	AMP	LOH
AO-7	27	Male	Rt. frontal	100	CR	NA	R
AO-8	45	Female	Rt. frontal	90	ST	AMP	R
AO-9	42	Female	Lt. parietal	30	ST	NA	R

AMP : amplified, NA : not amplified
R : retained