

主論文の要旨

**Reliability of IDH1-R132H and ATRX and/or p53
immunohistochemistry for molecular subclassification
of Grade 2/3 gliomas**

〔 グレード 2/3 神経膠腫に対する、IDH1-R132H、ATRX、p53 の
免疫染色を組み合わせた分子診断法の検証 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
脳神経病態制御学講座 脳神経外科学分野

(指導：齋藤 竜太 教授)

西川 知秀

【緒言】

WHO2016 脳腫瘍病理分類とそれに続く cIMPACT-NOW によって、神経膠腫の分類方法は分子異常を重視するものへと変化しつつある。しかし日常診療では免疫染色を用いた一部の分子解析は行うことができるものの、詳細な分子解析を行うことは困難であることも多い。

神経膠腫の分子診断では、IDH 変異、1 番染色体短腕(1p)/19 番染色体長腕(19q)共欠失、*CDKN2A/B* ホモ接合性欠失、*EGFR* 増幅、*TERT* プロモーター変異といった分子異常を評価する事が必要となる。これらのなかで特に重要な異常は IDH 変異と 1p/19q 共欠失である。神経膠腫の中で IDH 変異があり 1p/19q 共欠失がない場合は星細胞腫、IDH 変異があり 1p/19q 共欠失がある場合は乏突起膠腫に分類することができる。星細胞腫と乏突起膠腫は大きく性質が異なり、予後も大きく異なるため正確な診断が重要である。

IDH 変異は免疫染色法で評価可能であるが、1p/19q 共欠失は免疫染色法では評価困難である。*ATRX* 遺伝子と *TP53* 遺伝子は星細胞腫で高頻度にその変異を認めることが知られており、乏突起膠腫で認められる 1p/19q 共欠失と排他的である。*ATRX* 遺伝子と *TP53* 遺伝子の遺伝子変異はそれぞれのタンパク質発現に影響を及ぼすことも明らかになっていることから、免疫染色法により *ATRX* タンパク質と p53 タンパク質の発現量を評価することで、1p/19q 共欠失の有無を正確に予測できる可能性について検証することを目的とした。

【対象及び方法】

分子解析

2003 年から 2012 年の間に当院で手術を行い、グレードⅡもしくはⅢの神経膠腫と診断された 76 症例を対象とした。手術時に採取された腫瘍検体は凍結保存の後、全エクソン解析を実施し、*IDH1/2*、*ATRX*、*TP53* 遺伝子変異、*TERT* プロモーター変異、1p/19q 共欠失、*CDKN2A/B* ホモ接合性欠失、*EGFR* 増幅、7 番染色体の増幅と 10 番染色体の欠失をそれぞれ評価した。これらの情報を基に WHO2016 脳腫瘍病理分類に則って診断を行った。

組織学的評価及び免疫染色

各症例の腫瘍検体をホルマリン固定パラフィン包埋した後、4 枚のスライドを作成した。1 枚のスライドはヘマトキシリン&エオジン(H&E)染色を行い、残りの 3 枚は抗 IDH1-R132H 抗体(H09)、抗 *ATRX* 抗体(HPA001906)、抗 p53 抗体(DO-7)を用いて免疫染色を行った。H&E 染色スライドのみを用いた組織学的診断と、これに免疫染色の結果を踏まえた総合的な診断を得た。

【結果】

組織学的診断

H&E 染色のみを用いた組織学的診断を、WHO2016 脳腫瘍病理分類に則った診断と比較したところ、多くの症例で診断は合致していたが、合致しない症例も一部みられた。組織学的には乏突起膠腫と診断されたにも関わらず分子解析では 1p/19q 共欠失を認めず星細胞腫と診断された症例(5 例)や、逆に組織学的には星細胞腫と診断されたにも関わらず IDH 変異と 1p/19q 共欠失を認め乏突起膠腫と診断された症例(2 例)が存在した。

免疫染色

抗 IDH1-R132H 抗体(H09)免疫染色の感度と特異度はそれぞれ 98.2%と 84.2%であった。ATRX 遺伝子変異については、その変異があれば ATRX タンパク質の発現が消失すると考えられており、抗 ATRX 抗体(HPA001906)免疫染色の感度と特異度はそれぞれ 40.9%と 98.1%であった。p53 遺伝子変異については、その変異があれば p53 タンパク質の発現量が増加すると考えられており、抗 p53 抗体(DO-7)免疫染色の感度と特異度はそれぞれ 78.6%と 85.4%であった。

1p/19q 共欠失の代替マーカーとしての有用性の評価

これらの ATRX 及び p53 の免疫染色の結果を、1p/19q 共欠失の有無と比較して検討したところ、その感度及び特異度は ATRX 免疫染色で 100%と 29.4%、p53 免疫染色では 90.5%と 73.5%であった。これらを組み合わせ、「ATRX 免疫染色陽性かつ p53 免疫染色陰性」であることが 1p/19q 共欠失の代替マーカーとして評価したところ、その感度と特異度は 90.5%と 76.5%まで向上した。

免疫染色を用いた代理的診断の流れと、その診断の精度を Fig.1 に示した。76 例中 37 例が乏突起膠腫と診断されたが、実際にはこのうち 3 例は 1p/19q 共欠失を有しない星細胞腫であった。同様に、IDH 変異型星細胞腫と診断された 22 例中 6 例、IDH 野生型星細胞腫と診断された 17 例中 6 例で実際の診断と非合致する結果であった。

【考察】

WHO2016 脳腫瘍病理分類から始まった分子異常を重視する神経膠腫分類によって、患者の予後や最適な治療を判断するためには分子異常を評価することが重要となっている。しかしながら実臨床において、全ての症例に対して分子異常の解析を行うことは困難である。今回の研究で、ATRX 及び p53 の免疫染色を用いて評価することで、高い確率で 1p/19q 共欠失を正確に予測できることを示した。遺伝子解析ではなく、代替法として免疫染色を用いて分子異常を評価することの有用性は、cIMPACT-NOW 等でも述べられている。今回我々の結果は大多数の症例でその方針を支持する結果であった一方、一定数の症例では診断不一致があり、免疫染色を用いた代替診断が絶対的なものではないことも示唆している。病理診断と免疫染色による分子評価に矛盾が生じる場合には、慎重な検討が重要である。

【結語】

本研究によって、ATRX と p53 の免疫染色を組み合わせることで 1p/19q 共欠失の有無を正確に予測し得ることを示すことが出来た。神経膠腫の診断において分子解析を行う事のできる医療機関が限られている我が国の現状では、免疫染色を用いた代替法の意義は高いものである。その一方でその精度が必ずしも絶対的なものではなく、また今後の WHO2021 脳腫瘍病理分類では分子診断が予後予測や治療選択に影響を及ぼす可能性が高いため、慎重な解釈の検討を要することも示す事ができた。