

主論文の要旨

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

〔低悪性度神経膠腫における遺伝学的予後予測因子の解明〕

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

(指導：若林 俊彦 教授)

青木 恒介

【緒言】

WHO grade II もしくは III の神経膠腫 (lower-grade gliomas, 以下 LGGs) は緩徐に進行するが、浸潤性に増殖する原発性脳腫瘍である。我々は以前、LGGs の遺伝子異常の全容を明らかとするため、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 LGGs 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、LGGs 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た (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、LGGs 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った。LGGs において、特定の遺伝子異常が患者予後と関連するとして論文は幾つかあるものの、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ない。今回我々は、先の解析によりドライバー遺伝子変異やコピー数変化が明らかとなっている日本と TCGA の症例を対象として、遺伝子異常が各 subtype の予後に与える影響について検討した。また LGGs 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 LGGs 予後不良群と膠芽腫について臨床的、遺伝学的、エピジェネティクスな面から比較をした。

【対象及び方法】

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った日本の症例 308 例を対象とした(表 1)。平均観察期間は 74 ヶ月。WHO 分類に従い *IDH1/2* 変異と 1p/19q 共欠損を持つもの (Oligodendroglioma *IDH*-mutant/1p19q-codel)、*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 LGGs) に分けて検討した。各 subtype で 10%以上の頻度を認める、もしくは過去に患者予後との関連が報告されている遺伝子変異またはコピー数変化と、LGGs にて高頻度に認められるシグナル経路に関わる遺伝子群を解析の対象とした。シグナル経路は関連する遺伝子に一つ以上の変異もしくはコピー数変化が認められた場合に、当該経路の異常とした。各遺伝子異常や臨床因子に対して、Cox 比例ハザードモデル解析を行い、独立した予後予測因子を抽出した。情報に欠損があった場合には、多重代入法にて欠損値を補完し解析を行った。多変量解析を行う際には赤池情報量基準に基づくステップワイズ変数選択を行った。TCGA のデータを用いて、それらの結果を確認した。TCGA の膠芽腫データを用いて、予後不良因子を持つ LGGs と膠芽腫について、両者の比較を行った。

【結果】

a) 遺伝子異常と臨床的病理学的特徴の関連

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

良であった (図 1 A)。また、すべての subtype に於いて 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た (図 1 B)。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 1 C)、Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codel を除くすべての subtype に於いて、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た (図 1 D)。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った。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った。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 1 E)、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た (図 1 F)。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、単変量 Cox 比例ハザードモデルで解析を行ったところ、Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codel では *NOTCH1* 変異が、Astrocytoma IDH-mutant では *PIK3RI* 変異と retinoblastoma (RB) 経路が、IDH 野生型 LGGs では *TERT* プロモーター変異、*TP53* 変異、染色体 7p 増幅、10q、14q 欠損が患者予後不良と有意な関連を示した。年齢及び WHO grade で調整した Cox 例ハザードモデル解析を行っても、IDH 野生型 LGGs の *TP53* 変異、染色体 14q 欠損を除く全ての上記遺伝子異常は患者予後不良と有意な関連を示した (図 2 A-C)。

c) 多変量解析による検討

これまでに年齢、WHO grade、手術摘出度が LGGs 患者予後と有意な関連が報告されている。これら臨床的因子と、今回同定した遺伝子異常が患者予後に与える影響を明らかにするために、多変量 Cox 比例ハザードモデル解析を行った。解析には、年齢、WHO grade、手術摘出度の他に、年齢と WHO grade によって調整した Cox 比例ハザードモデル解析にて患者予後との有意な関連を認めた遺伝子異常を変数として採用した。IDH 野生型 LGGs において、*TERT* プロモーター変異、染色体 7p 増幅、10q 欠損は非常に高い相関を示しており (図 2 D)、多重共線性を避けるため、これら 3 つの遺伝子異常をすべて持つかどうかという 1 つの変数を解析に採用した。解析の結果、Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codel では手術摘出度 ($P=0.0019$) と *NOTCH1* 変異 ($P=0.0041$) が、Astrocytoma IDH-mutant では *PIK3RI* 変異 ($P=0.0014$) と RB 経路 ($P=0.013$) が、IDH 野生型 LGGs では WHO grade ($P<0.0001$) と *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 ($P=0.024$) が患者予後不良と有意な関連を示した (表 2、図 3 A、C、E)。

d) TCGA コホートによる検証

TCGA コホートは日本のコホートに比べ、観察期間が有意に短期間であったが (平均観察期間 19 ヶ月)、その他の点については大きな違いはなかった (表 1)。多変量解析を行ったところ、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た

が、Oligodendroglioma IDH-mutant/1p19q-codeletにおける手術摘出度と *NOTCH1* 変異は有意差を認めなかった(表2)。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あった(図3D)。IDH 野生型 LGGs 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なかったが、因子を全く持たない群(低リスク群)は明らかに予後良好であった(図3F)。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た(図4)。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 LGGs 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た。

【考察】

本研究は、十分なフォローアップ期間のある多数の検体を用いて、改定された WHO 分類に従い LGGs を3つの subtype に分けた上で、遺伝子異常と患者予後との関係を網羅的に解析した初めての報告である。今回の解析により、LGGs 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た。また IDH 野生型 LGGs 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た。今回、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-codelet 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。今後新たなコホートで再解析されることが求められる。

【結語】

今回同定した遺伝子異常を検査することで、より正確な患者予後予測ができるようになり、患者毎に最適な治療の選択が可能になっていくと考えられた。