



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	神経膠腫における遺伝子解析 : 特に成人のBRAF V600E点変異に注目して [全文の要約]
Author(s)	伊師, 雪友
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号 : 2358 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12979号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70374
Type	doctoral thesis
File Information	Yukitomo_Ishi_summary.pdf



学位論文（要約）

神経膠腫における遺伝子解析：特に成人の BRAF
V600E 点変異に注目して
(Genetic Analysis of Gliomas: Focused on BRAF
V600E Mutation in Adults)

2018 年 3 月

北海道大学

伊師雪友

【緒言】神経膠腫は脳実質由来の代表的な脳腫瘍であり、従来は形態学的な病理診断に基づいて WHO grade 2/3 の astrocytic tumor と oligodendroglial tumor、WHO grade 4 の glioblastoma とに分類されてきた。近年の大規模な遺伝子解析の結果、それぞれの組織型において高頻度に認められる遺伝子異常が多数同定され、WHO 分類の 2016 年改訂版で神経膠腫の診断基準の中に遺伝子異常が初めて取り入れられた。成人の神経膠腫においては、IDH1/2 や TERT プロモーター領域の点変異が代表的な遺伝子異常であり、特に IDH 遺伝子は変異の有無により WHO 分類の IDH 変異型と野生型とに分けられることから非常に重要な遺伝子である。一方小児の膠芽腫やびまん性内在性橋膠腫では H3F3A 点変異が、低悪性度神経膠腫では BRAF 点変異や融合遺伝子が代表的な遺伝子異常である。BRAF 遺伝子は mitogen activated protein kinase (MAPK) シグナル経路の分子をコードする遺伝子で、診断基準には含まれていないが小児の低悪性度神経膠腫において高頻度である。一方で成人の神経膠腫にも認められることが知られているが、その頻度や臨床像に関しては不明な点が多い。本研究では全年齢の神経膠腫に対して成人および小児に代表的な遺伝子変異の解析を行い、特に BRAF 点変異に着目してその臨床像について検討を行った。

【実験方法】北海道大学病院で過去に手術が行われた神経膠腫の凍結検体から DNA/RNA を抽出し、遺伝子解析を行った。成人神経膠腫の代表的な遺伝子異常として IDH1/2 点変異と TERT プロモーター領域の点変異を、小児神経膠腫の代表的な遺伝子異常として H3F3A、HIST1H3B、BRAF、FGFR 1 の点変異をサンガー法により解析し、また BRAF-KIAA1549 融合遺伝子を RT-PCR を用いて検出した。年齢は 0-14 歳を小児、15-29 歳を若年成人、30 歳以上を成人と定義した。BRAF 変異例の臨床像の解析においては、必要な症例においては定量 RT-PCR や免疫染色により遺伝子発現解析とタンパク発現解析を行った。生存解析は Log-rank test で解析を行った。なお本研究は北海道大学及び北海道大学病院の倫理委員会において承認を得て行った。

【結果】対象となった症例の総数は小児 42 例、若年成人 42 例、成人 245 例での計 329 例であった。0-29 歳までに対しては前述の遺伝子変異全てを、30 歳以上に対しては IDH1/2、TERT、BRAF の点変異の解析を行った。0-14 歳においては IDH および TERT の変異を持つ症例は認められず、28 例 (66.7%) に H3F3A、BRAF、FGFR1 のいずれかの変異が認められた。30 歳以上においては IDH および TERT の少なくとも一方の変異を有する症例が 170 例 (69.4%) を占めた。15-29 歳においては小児に多い H3F3A や BRAF の変異を有する群と、成人に多い IDH/TERT の変異を有する群とが相互排他的に存在し、10 代から 20 代へ移行する際に頻度が逆転していた。またこの年齢層の WHO grade2 以上の神経膠腫において生存解析を行うと、BRAF 変異群は予後良好な群を形成し、IDH 野生型群と IDH 変異群の生存曲線の差がより明確となった。すなわち、若年成人神経膠腫の中には IDH 野生型で予後不良と考えられるにもかかわらず、実際には BRAF 変異を有し予後良好な症例が含まれており解析の必要性が示唆された。次に 15 歳以上の成人全体における、BRAF 変異を有する神経膠腫の臨床像について解析を行った。WHO grade 1 が 6 例、grade 2 が 3 例、grade 4 が 4 例該当した。WHO grade 1 の症例において BRAF 点変異が高頻度であることは従来の報告通りであったが、grade 2 の症例にも低い頻度でありながら症例が存在した。WHO grade 1-2 の低悪性度神経膠腫は大部分が 30 歳未満の若

年成人での発症であり、大脳半球に発生しててんかん発作をきたしやすい症例と、間脳に発生し頭痛をきたしやすい症例とに分けられた。特に WHO grade 1/2 の低悪性度神経膠腫の中で、9 例中 8 例が 30 歳未満の発症であった。WHO grade 3 以上の高悪性度神経膠腫において、BRAF 変異を有する症例は glioblastoma の 6 例 (4.4%) に認められた。1 例は epithelioid glioblastoma の病理診断であった。いずれの症例も IDH 及び TERT 変異とは相互排他的であった。BRAF 点変異を有する症例の発症年齢は IDH 変異群と同様の年齢層で、glioblastoma に多い TERT 変異単独を有する遺伝子型と比べて有意に若年での発症であった。生存解析において glioblastoma の中では IDH 変異群と同程度の予後であり、IDH 野生型に比べて予後良好であった。また WHO grade 3/4 全体の中で、BRAF 変異例は TERT 変異単独の症例に比べて予後良好であった。同じ BRAF 変異群であっても 12 ヶ月以内に死亡した症例と 24 ヶ月以上生存した症例とが存在し、何らかの因子により予後不良群と予後良好群とに分けられる可能性が示唆された。予後マーカーの探索を行った結果、長期生存を認めた 4 例では CDKN2A の発現が高く ATRX の発現欠失が認められた一方、早期に死亡した 2 例では CDKN2A の発現が低く ATRX の発現が保たれていた。以上から CDKN2A や ATRX の発現が、BRAF 点変異を有する高悪性度神経膠腫において予後規定因子となる可能性が示唆された。

【考察】15～29 歳の若年成人において、小児に多い遺伝子変異を有する群と、成人に多い遺伝子変異を有する群が相互排他的に存在しており、生物学的に異なるこれらの腫瘍の発生頻度が移行する年齢層であることが示唆された。本年齢層では IDH 変異の有無によって大別されるが、BRAF 変異を有する腫瘍は IDH 野生型であっても異なる群を形成しており、本来の IDH 野生型とは区別されるべきと考えられた。低悪性度神経膠腫では、WHO grade 1 のみならず grade 2 においても BRAF 変異が認められ、特に若年成人の IDH 野生型では積極的に解析する必要があると考えられた。一方 30 歳以上の症例では BRAF 変異は稀であり、解析の有用性は乏しいと考えられた。高悪性度神経膠腫においては BRAF 変異が glioblastoma の一部に認められ、予後良好群を形成していたことから IDH 野生型において解析の必要性が示唆された。また BRAF 変異をもつものであっても予後不良な症例が存在し、さらなる予後マーカーの探索が必要と考えられた。過去の文献上、BRAF 点変異を有する膠芽腫の頻度は 5%程度であり、本研究も同様の結果であった。近年は BRAF の特異的阻害剤を用いた神経膠腫の治療研究も報告されており、今後 BRAF 遺伝子の変異解析の必要性が高まる可能性があると考えられた。【結論】若年成人の神経膠腫において、成人に多い IDH や TERT 変異のみならず小児に多い遺伝子変異も解析対象とすることで、より正確な予後予測が可能となる可能性がある。特に BRAF 変異を有する症例は、成人神経膠腫全体における頻度は必ずしも高くないものの IDH 野生型と診断される症例の一部に存在し、予後予測の観点から本来の IDH 野生型とは区別されるべきと考えられた。