

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 小倉 良介
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第618号
学位授与の日付 平成27年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Immunohistochemical profiles of IDH1, MGMT and P53: practical significance for prognostication of patients with diffuse gliomas
(免疫染色法による神経膠腫の分子プロファイリングの有用性と意義)

論文審査委員 主査 教授 青山 英史
副査 教授 藤井 幸彦
副査 准教授 岡本 浩一郎

博士論文の要旨

【目的と背景】神経膠腫の遺伝子解析が進むにつれ、組織診断のみならず、分子生物学的背景を加味した総合診断が重要になっている。特に、イソクエン酸脱水素酵素 (IDH) の変異は、神経膠腫の発生早期に起こる異常と考えられ、星細胞系腫瘍や乏突起膠細胞系腫瘍では高頻度に認められる遺伝子異常である。そのため、神経膠腫の診断に有用であり、悪性神経膠腫においては強力な予後良好因子とも言われている。癌抑制遺伝子の代表である p53 は、星細胞系腫瘍の発生との関連が示されている。さらに、メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) は、テモゾロミドなどの抗腫瘍薬によりアルキル化された DNA を修復する酵素であり、プロモーター領域のメチル化は予後や治療効果に関連するとされている。

しかしながら、これらの遺伝子異常を調べるためには、遺伝子解析を行うための設備や環境が必要なため、解析できる施設は限られる。一方で、免疫染色法は、遺伝子解析と比較し簡便で特殊な設備を必要としないため、日常臨床で普及している。申請者らは、免疫染色法を用いて IDH1、p53、MGMT の発現について解析し、臨床的意義を検討した。

【対象と方法】対象は2000年1月から2013年12月までに当科で手術を行い、予後因子解析が行えた18歳以上の初発神経膠腫312例 (男性175例、女性137例; 平均年齢 58.4±15.6歳)。組織診断の内訳は、びまん性星細胞腫 (DA) 19例、乏突起膠腫/乏突起星細胞腫 (OD/OA) 27例、退形成性星細胞腫 (AA) 61例、退形成性乏突起膠腫/乏突起星細胞腫 (AOD/AOA) 40例、膠芽腫 (GBM) 165例。以下に示した各抗体を用いて免疫染色を行い、患者情報や臨床経過あるいは組織学的悪性度などの情報を伏せた状態で脳外科医2名がそれぞれ判定を行い、その後、病理医が確認した。

IDH1 変異は、IDH1R132H 変異抗体 (clone H09; Dianova, Hamburg, Germany; dilution 1:100) を用いて、細胞質が濃染するものを陽性と判断した。MGMT 蛋白の発現 (clone MT3.1; Chemicon International, Temecula, CA, USA; 1:50) は、最も悪性度の高い領域を評価し、腫瘍細胞の核の濃染により陰性 (30%未満) と陽性 (30%以上) に分類した。p53 の発現 (clone DO-7; Dako, Glostrup, Denmark; 1:50) については、核の濃染により陰性 (0-10%)、陽性 (10-50%)、強陽性 (50%以上) に分類した。免疫染色の判定については、

これらの分子マーカーと、予後との関連を統計的手法により解析した。

【結果】①神経膠腫における分子マーカーの陽性頻度と予後との関連

IDH1 は、Grade II 神経膠腫 (DA, OD/OA) では高頻度に陽性だが、GBM では稀であった。IDH1 陽性群の予後は、Grade III, IV神経膠腫 (GBM, AA, AOD/AOA) において有意に良好であった。MGMT 陰性群は、乏突起膠細胞腫系で高頻度であったが、星細胞腫系においては頻度に有意差は認めなかった。p53 に関しては、悪性度との関連を認めたが、星細胞腫系においては予後との関連を認めなかった。一方 Grade II の乏突起膠細胞腫系 (OD/OA) では、p53 陽性群が予後不良の傾向にあった。

②臨床的背景および分子マーカーと予後因子との関連 GBM および AA において、臨床的背景として年齢、Karnofsky Performance Status、摘出率、放射線化学療法の有無が、分子マーカーでは IDH1、MGMT が単変量解析で予後との関連を認めた。さらに多変量解析では、摘出率、放射線化学療法の有無、IDH1、MGMT が独立した予後因子であった。また、放射線化学療法は、MGMT 陰性 GBM で顕著な予後延長効果を認め、MGMT 陽性 GBM においては効果が乏しかった。

②悪性星細胞腫における分子マーカーと予後

悪性星細胞腫 (GBM/AA) について、Kaplan-Meier 法による生存解析を行った。全生存期間中央値は、IDH1 陽性/MGMT 陰性群が最長 (56 ヶ月) で、IDH1 陰性/MGMT 陽性群が最短 (12 ヶ月) であった。p53 の発現については、陽性または強陽性であっても、単独では予後との関連は示されなかった。しかし、放射線化学療法の期待できる MGMT 陰性群においては、p53 が強陽性の場合、MGMT 陽性群と同程度に予後不良であった。そこで、MGMT 陽性群と、MGMT 陰性 p53 強陽性群をひとつのグループとした。悪性星細胞腫を、グループ A (IDH1 陽性 MGMT 陰性群)、グループ B (IDH1 陰性 MGMT 陰性群)、グループ C (MGMT 陽性群、MGMT 陰性 p53 強陽性群) の 3 群に分類すると、各々の生存期間中央値は、56 ヶ月、18 ヶ月、12 ヶ月であり、各群には有意差が認められた。

【結論】免疫染色法を用いた分子マーカー解析は、予後評価のみならず、治療効果を予測する上でも有用であった。将来的には、これらの結果をもとにした個別化治療が展開される可能性がある。

審査結果の要旨

神経膠腫では遺伝子解析が進むにつれ、組織診断に遺伝子情報を加味した総合診断が重要になっている。申請者らは、初発神経膠腫 312 例を対象として、免疫染色法を用いて IDH1 変異、p53 の発現、MGMT の発現について解析し、予後との関連性を検討した。

IDH1 は、Grade II 神経膠腫 (DA, OD/OA) では高頻度に陽性だが、GBM では稀であること。IDH1 陽性群の予後は、Grade III, IV神経膠腫 (GBM, AA, AOD/AOA) において有意に良好であること。MGMT 陰性群は、乏突起膠細胞腫系で高頻度であったが、星細胞腫系においては頻度に有意差は認めないこと。p53 に関しては、悪性度との関連を認めたが、星細胞腫系においては予後との関連を認めないこと。一方 Grade II の乏突起膠細胞腫系 (OD/OA) では、p53 陽性群が予後不良の傾向にあること。GBM および AA において、IDH1、MGMT が単変量、多変量解析において独立した予後因子であることなどを明らかにした。

これらの結果をもとに悪性星細胞腫を、グループ A (IDH1 陽性 MGMT 陰性群)、グループ B (IDH1 陰性 MGMT 陰性群)、グループ C (MGMT 陽性群、MGMT 陰性 p53 強陽性群) の 3 群に分類すると、各々の生存期間中央値は、56 ヶ月、18 ヶ月、12 ヶ月であり、各群には有意差が認められた。

これらの結果から、免疫染色法を用いた分子マーカー解析は、予後評価のみならず、治療効果を予測する上でも有用であるという結論に至った。よって、本論文は、博士 (医学) の学位論文として価値のある

ものと認めた。