

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	野澤 孝徳
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 793 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	EGFRvIIIを発現した膠芽腫細胞の特徴と分布
論文審査委員	主査 教授 味岡 洋一 副査 教授 柿田 明美 副査 教授 藤井 幸彦

### 博士論文の要旨

#### 背景と目的

Glioblastoma は成人の原発性悪性脳腫瘍で最も多い腫瘍であり、臨床的には最も悪性な腫瘍の一つである。組織学的には退形成所見の著しい神経膠腫であり、高い増殖能と破壊性浸潤性増殖傾向を示し、主に星細胞系分化を示す。手術、放射線治療、化学療法を組み合わせた治療を行っても、その予後は依然として不良である。症例の 9 割程度は *IDH1/2* 変異をもたない glioblastoma, *IDH wild-type* であり、1 割は *IDH1/2* 変異を認める glioblastoma, *IDH mutant* である。明らかな前駆病変なく、新規に急速な進行を示す原発性 glioblastoma と先行する低悪性度星細胞腫から緩徐に進行し、悪性転化して発生する二次性 glioblastoma に分けられる。二次性 glioblastoma では *IDH1/2* 変異の頻度が高く、*de novo* に発生する原発性 glioblastoma よりも予後がやや良好である。

EGFR 遺伝子増幅および再編成は glioblastoma で高頻度に認められ、その変異型である EGFRvIII もその一つである。EGFRvIIIは EGFR 遺伝子の exon2-7 に in-frame deletion を生じたタンパクであり、145kDa の大きさを有する腫瘍特異的な表面抗原である。EGFRvIIIはリガンド非依存的に STAT pathway や PI3K-Akt pathway を常に活性化させ、血管増生や腫瘍増殖を促進させる。Glioblastoma においては、EGFRvIIIは *IDH* 変異がなく、EGFR amplification を伴う腫瘍に発現し、初発時には認めるが再発組織では失われるという特徴を持つ。EGFRvIIIはその腫瘍特異性から、これまで治療ターゲットとして注目を集めてきたが免疫組織化学的な検索が不十分であった。この研究では、EGFRvIIIに特異的な抗体を用いて、Glioblastoma, *IDH wild-type* と診断された腫瘍の切片を免疫組織化学的に検索し、EGFRvIII 陽性細胞の形態的な特徴やその分布、また、EGFRvIII発現の予後への関与を調査することを目的とした。

#### 方法

2012 年から 2016 年までの間に新潟大学医歯学総合病院脳神経外科に入院し、手術が行われ、Glioblastoma, *IDH wild-type* と診断された 48 名 (男 26 名、女 22 名) の患者を対象とした。診断は WHO 分類に従って行い、*IDH* 遺伝子変異の有無については、*IDH1* 特異的免疫染色抗体および *IDH1/2* の DNA sequencing を行い、判断した。組織学的検索は、手術標本を 20%ホルマリンに固定しパラフィン包埋したものを 4 $\mu$ m に薄切した切片を使用して行った。EGFRvIIIに特異的な抗体を用いて、免疫組織化学的検索を行い、細胞形態、EGFRvIII陽性腫瘍細胞の分布を評価した。さらには EGFRvIII発現の予後への影響を評価した。

## 結果

48 患者中、11 患者 (22.9%) で EGFRvIII 免疫染色陽性となった。腫瘍摘出範囲と標本保存状態により、5 標本で EGFRvIII 分布の評価が可能であった。免疫染色では複数の突起を有するグリオーマ細胞において EGFRvIII および glial fibrillary acidic protein (GFAP) の発現が認められた。EGFRvIII 陽性細胞は腫瘍の中心部に存在し、辺縁部には存在しなかった。再発症例が 1 例あり、腫瘍に対する治療効果を確認することができた。単変量解析を行った結果、EGFRvIII 発現の有無は生存期間に関与しないことが示された。

## 考察と結論

この研究では、初発 glioblastoma において、EGFRvIII 発現が腫瘍中心領域の星細胞系分化の高い領域にのみ限局し、浸潤領域には認めないことを確認した。既報では免疫不全マウスや培養細胞を用いた研究では EGFRvIII を発現した腫瘍細胞は EGFRvIII 陰性の細胞よりも浸潤能が低いことが示されている。この結果を合わせて考えると、EGFRvIII 陽性腫瘍細胞は、浸潤能の高い腫瘍細胞では、その発現が失われていることが示唆される。これまで、腫瘍細胞の移動性と増殖性は相互排他的であるという現象 (grow-or-go phenomenon) は癌において知られている。ここでは主に低酸素が増殖と浸潤の転換に関与することが示唆されている。申請者の研究では、腫瘍細胞の浸潤・増殖において、EGFRvIII 発現が重要な役割を果たしていることを示した。

EGFRvIII の予後への影響はこれまでの研究で議論の残る結果となっている。EGFRvIII を発現している glioblastoma の予後が良好であるとの報告や、その一方で、予後不良因子であるとの報告や生存期間には影響しないとの報告もある。我々の研究でも、生存期間に関与するという結果は得られなかった。

## 結論

本研究では EGFRvIII 陽性細胞は星細胞系分化を示し、GFAP 陽性の腫瘍細胞が認められる腫瘍の中心部に存在し、浸潤領域には存在しないことが示された。この知見は、EGFRvIII は腫瘍増殖には関与するが、浸潤する glioma 細胞は EGFRvIII 発現を失っていることを示唆している。

## 審査結果の要旨

Glioblastoma は成人の原発性悪性脳腫瘍で最も多い腫瘍であり、臨床的には最も悪性な腫瘍の一つである。EGFR 遺伝子増幅および再編成は glioblastoma で高頻度に認められ、その変異型の一つある EGFRvIII は STAT pathway や PI3-Akt pathway を恒常的に活性化させ、血管増生や腫瘍増殖を促進させる。本研究では、EGFRvIII に特異的な抗体を用いて、Glioblastoma, IDH wild-type 48 例における EGFRvIII 陽性細胞の形態学的特徴やその腫瘍内分布、EGFRvIII 発現の予後への関与について検討した。11/48 (22.9%) が EGFRvIII 陽性であった。陽性細胞では GFAP 陽性の星細胞系への分化がみられ、その腫瘍内局在は腫瘍中心部で、辺縁部の浸潤領域には認めないことが確認された。このことから、同陽性細胞は浸潤能が高い腫瘍細胞ではその発現が喪失していることが示唆された。変量解析では、EGFRvIII 発現の有無と生存期間との間には有意な相関はなかった。

以上のことから本研究は、EGFRvIII は glioblastoma の増殖と浸潤に重要な役割を果たしており、細胞増殖には関与するが、浸潤する腫瘍細胞ではその発現が失われている可能性を明らかにした点で、学位論文としての価値を認める。