

A comprehensive method for the classification of diffuse glioma

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2019-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 足立, 知司 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002260

(所定様式⑤)

論文内容の要約

順天堂大学	博士 (医学)	氏名	足立 知司
論文題目	A comprehensive method for the classification of diffuse glioma (高悪性度神経膠腫分類に対する迅速診断法の提案)		

(論文内容の要約) (1000字~1500字)

【目的】

Diffuse glioma は現在までに治癒的治療法の確立されてない脳腫瘍のうちの一つである。現時点ではその分類が定まりつつある段階であり、2016年 WHO 分類では分子生物学的診断を加えることが必須となった。さらに近年、IDH1/2、TERT promoter mutation の有無が Diffuse Glioma の予後予測因子として報告されている。分子生物学的診断には様々な方法が存在するが、塩基配列の同定として、Pyrosequence 法は従来までの Direct Sequence 法と異なり、局所的な配列を短時間で同定することのできる技術であり、様々な癌腫の診断解析に用いられてきた。本研究は、神経膠腫の予後予測に必要な、IDH1/2、TERT promoter mutation の有無の同定に応用することで、神経膠腫の診断を迅速にすることを目的として行った。さらに我々はこの診断法を改良することで、極めて短時間で同定が可能かどうかを検討している。

また、本法の妥当性を評価する目的で、当院での手術対象となった diffuse glioma 検体を本法で解析するとともに、腫瘍切除範囲及び生命予後に関する相関を調査した。

【方法】

2016年、当院における diffuse Glioma の組織診断を得られた腫瘍検体を用いた。腫瘍検体は Qiagen 社の DNA extract kit を使用し DNA を抽出した。DNA 50ng を既存論文より効率のよいプライマーを選択肢、Qiagen 社の Fast cycling を用いて PCR を施行した。PCR 産物を Qiagen 社の PyroMark により ID1/2、TERT promoter 領域の遺伝子解析を行った。同時に解析時間を同定するため DNA 抽出開始から遺伝子解析までの時間を計測した。

さらに2010年より2016年における diffuse glioma 罹患者の検体を本法で解析するとともに、記録よりその生命予後を解析した。

【結果】

腫瘍検体採取から IDH1/2 及び TERT promoter に関して診断結果を得るまで 85 分であった。特に IDH1/2 においては 70 分であった。2010年より2016年まで当院で手術を施行された患者は全 62 例であった。組織診断は 6 例(diffuse astrocytomas)、5 例(oligodendrogliomas)、4 例(anaplastic oligodendrogliomas)、15 例(anaplastic astrocytomas)、3 例(anaplastic oligoastrocytomas)、29 例(glioblastomas)であった。分子診断は 18 例で IDH1 mutation、1 例で IDH2 mutation を検出した。OS は IDH1/2 mutation 患者、wild type 患者、 $P=0.004$ と有意差を認めた。TERT promoter mutation は 31 例で検出した。1p/19q codeletion は 10 例で検出した。10 例において全例で IDH1/2 mutation 及び TERT promoter mutation を認めた。OS は 1p/19q codeletion 例、intact type で、 $P=0.015$ と有意差を認めた。サブグループ解析は、10 例 Group A (IDH1 mutant type, TERT promoter mutant), 9 例 Group B (IDH1 mutant type, TERT promoter wild type), 22 例 Group C (IDH1 wild type, TERT promoter wild type), 21 例 Group D (IDH1 wild type, TERT mutant type) であった。OS は Group C グループ間において有意差を認めた ($P=0.001$)。IDH1/2 mutant Group においては腫瘍切除範囲に関わらず OS は良好であった。Group D において腫瘍切除率 70%以上群は切除率 70%以下群と比較し OS 良好であった ($P=0.015$)。Group C において残存腫瘍率 5cm^3 以下群は残存腫瘍率 5cm^3 以上群でと比較し OS 良好であった ($P=0.018$)。

【考察】

既報の direct sequence 法を用いた検討では、その所要時間は 280 分との報告であったが、本法では大幅な短縮が可能であることが示された。この時間は術中迅速診断で受容可能な時間であると考えた。併せて二つの分子診断結果によるグループ分類が手術症例における腫瘍切除範囲に影響を受けるかどうかを併せて検討した。解析結果から Group D (IDH1/2 wild type, TERT promoter mutant) 群において腫瘍切除率 70%以上で OS に関して有意差を得た。また Group C (IDH1/2 non mutant, TERT promoter wild type) においては残存腫瘍 5cm^3 以下で OS に関して有意差を認めた。

【結語】

我々の Pyrosequence 法による分子生物学的診断は従来法と同様の結果を得られることが示された。また、本法による時間短縮は、術中の分子生物学的診断をもたらす可能性が示唆された。