

ISSN 1346-9312

Neuro-Oncology (Tokyo)

2013. vol 23. No1

第45回 ニューロ・オンコロジーの会(2013,7)機関誌

共催：ニューロ・オンコロジーの会
M S D 株式会社

Neuro-Oncology (Tokyo)

2013. vol 23. No. 1

主題

“悪性グリオーマにおける手術の役割と新治療”

“診断・治療に苦慮した症例、珍しい症例など”

第45回 ニューロ・オンコロジーの会(2013,7)機関誌

目 次

Pilocytic astrocytoma の 1 剖検例	1
新潟大学脳研究所 脳神経外科	小倉 良介 ほか
髄液鼻漏にて発症した下垂体腺腫の一例	4
東邦大学医療センター佐倉病院 脳神経外科	安藤 俊平 ほか
髄液播種を起こした膠芽腫の臨床学的・組織学的検討	10
神戸大学医学部 脳神経外科	篠山 隆司 ほか
これまでの glioma 手術をふりかえって	15
北海道大学 脳神経外科	小林 浩之 ほか
再発膠芽腫における再摘出術の役割と有用性	24
杏林大学医学部 脳神経外科	横矢 重臣 ほか
The Cancer Genome Atlas (TCGA) データの glioma stem cell 研究への応用 : 新規分子標的治療の開発を目指して	29
東邦大学医療センター大橋病院 脳神経外科	齋藤 紀彦 ほか

Anaplastic pilocytic astrocytoma の一剖検例

Anaplastic pilocytic astrocytoma: a histopathologic and histogenetic analysis of an autopsied adult patient

新潟大学 脳研究所 脳神経外科^{a)}、新潟大学 脳研究所 病理学分野^{b)}

○小倉良介^{a,b)}、塚本佳広^{a,b)}、青木 洋^{a)}、吉村淳一^{a)}、
岡本浩一郎^{a)}、藤井幸彦^{a)}、高橋 均^{b)}、柿田明美^{b)}

Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, University of Niigata, Niigata, Japan^{a)}

Department of Pathology, Brain Research Institute, University of Niigata, Niigata, Japan^{b)}

R. Ogura^{a,b)}, Y. Tsukamoto^{a,b)}, H. Aoki^{a)}, J. Yoshimura^{a)}, K. Okamoto^{a)}, Y. Fujii^{a)}, H. Takahashi^{b)},
A. Kakita^{b)}

Abstract: We report an autopsy case of anaplastic pilocytic astrocytoma (APA) with glioblastoma (GBM) component, which arose in the dorsal medulla oblongata of a 56-year-old woman. The tumor constituted a relatively well-demarcated mass involving the dorsal part of the medulla oblongata, with intraventricular and subarachnoid dissemination. The medullary tumor was composed of a mixture of APA and GBM features. APA area showed immunoreactivity for GFAP and S-100 protein, whereas GBM area was negative GFAP and S-100 protein. MIB-1 labeling index and p53 protein expression showed stronger in GBM area than APA area. We examined genetically APA and GBM areas, and frontal lobe as normal control, IDH1/2 mutations and BRAF fusion or mutation were negative in this case. The frontal lobe and APA showed a heterozygous mutation of TP53 (R175H). DNA from GBM area showed a homozygous mutation of TP53 (R175H), indicating loss of the wild type allele. The heterozygous mutation of TP53 was found in the frontal lobe, and it was indicating that the mutation was somatic (germ-line mutation). The data suggest that APA might transform to GBM when it was altered TP53 mutation.

Key words: anaplastic pilocytic astrocytoma, p53 mutation.

【要旨】

症例は、父、兄、姉に癌の家族歴がある 56 歳女性。感覚障害で発症した延髄背側の比較的境界明瞭な腫瘍性病変であったが、5 ヶ月の経過で永眠。病態解明を目的に中枢神経系の解剖を行った。

画像上一つの腫瘍に見えたが、剖検時には anaplastic pilocytic astrocytoma (APA) および glioblastoma (GBM) の組織で構成されていた。免疫組織染色では、APA と GBM の両者に p53 の発現上昇を認めた。TP53 の遺伝子解析を行うと、非腫瘍部 (germ line) および APA ではコドン 175 の heterozygous mutation を認め、GBM では同部の homozygous mutation を認めた。

本症例は、一つの腫瘍の中に異なる組織像を認めたが、p53 の germ line mutation を背景とした一連の腫瘍と考えた。また、p53 の変異により、APA から GBM へと悪性転化した可能性が示唆された。

【はじめに】

Pilocytic astrocytoma (PA) は、WHO grade I に分類され、多くは小児から若年成人に発生する腫瘍である。稀ながら anaplastic features を持つ予後不良例が存在することが知られており、Rodriguez らは anaplastic pilocytic astrocytoma (APA) と呼ぶことを提唱している¹⁾。実際には、anaplastic astrocytoma との鑑別や分子生物学的な背景を含め、不明な点が多い。今回、脳幹に発生した APA の一剖検例を経験したので文献的考察を加え報告する。

【対象・方法】

症例は 56 歳女性。癌の既往歴なし。父 (大腸癌)、兄 (膵臓癌)、姉 (乳癌) に癌の家族歴あり。3 年前から風邪をひくと左顔面痛が出現していた。左顔面痛、右上下肢の感覚障害が悪化したため近医受診。精査にて、延髄背側に、境界明瞭で内部が不整に造

影される腫瘍性病変が認められ当科紹介。入院精査を行っていたが、1ヶ月の経過で症状の増悪および病変の増大をきたしたため、病理診断を目的に、正中後頭窩開頭で延髄背側の腫瘍を生検した。

病理所見としては、細長い双極性の突起を有する腫瘍細胞が、rosenthal fiber を多数伴い増殖していた。核分裂像が散見され、核の異型および MIB-1 高値であったことから、APA と診断した。テモゾロミド併用放射線治療を行ったが、照射終了時の MRI で、側脳室内に広範な播種像を認めた。全脳照射を追加したが、意識障害が進行し、診断確定から5ヶ月で死亡(発症からの全経過3年7ヶ月)。治療反応性に乏しく、急速な悪化をきたした症例であり、病態解明目的に家族の承諾を得て中枢神経系のみ解剖を施行した。

【結果】

主病変は、原発巣である延髄背側に限局していたが、広範な脳室内播種をきたしており、脳室壁から連続する形で大脳にも一部結節性病変を認めた。手術摘出部近傍の病変下部には、細長い双極性の突起を有する腫瘍細胞が、rosenthal fiber を多数伴い増殖していた (APA)。病変中間部では、比較的太い双極性の突起を有する腫瘍細胞が、粘液質様の背景に増殖していた (移行部)。病変上部では、多型・異型が高度で、psudopallisade necrosis および microvascular proliferation の明らかな glioblastoma の組織像を呈していた (GBM)。画像上は、延髄背側のひとつの腫瘍に見えたが、上記3つの component で構成されていた。それぞれの組織像および腫瘍浸潤のない右前頭葉 (非腫瘍部) に対し、免疫組織染色法による発現蛋白解析、FISH 法および DNA direct sequencing 法による遺伝子解析を行った。

APA では、GFAP, S-100 に陽性、Nestin, Vimentin は陰性と比較的分化した傾向を示したのに対し、GBM では GFAP, S-100 に陰性、Nestin, Vimentin が陽性で未分化な傾向を示していた。p53 の免疫染色では、APA から GBM にかけて発現上昇を認めたことから、本病態に p53 の遺伝子異常の関与が示唆された。

遺伝子変異について、IDH1/2, BRAF V600, TP53 の5つの hot spot (R175, G245, R248, R273, R306) について direct sequencing による解析を行い、BRAF-KIAA1549 融合遺伝子、1p19q 欠失の有無については FISH 法を用いて解析した。非腫瘍部、APA および GBM では、IDH1/2, BRAF V600, BRAF-KIAA1549 はいずれも wild type であったが、TP53 に異常を認めた。非腫瘍部および APA では TP53 のコドン 175(exon5) に CGC から CAC(Arg → His) への heterozygous mutation を認め、GBM では同部位の

homozygous mutation を認めた。

【考察】

画像上は、延髄背側に比較的均一な所見を呈するひとつの腫瘍に見えたが、免疫組織染色および遺伝子解析の結果から、APA から GBM への変異を示唆する3つの異なる組織像で構成されていた。APA は anaplastic astrocytoma との鑑別を含め、分子生物学的な背景には不明な点が多い。PA の悪性転化と p53 の関連についても議論が分かれている^{1,2,3,4)}。本例の摘出時および剖検時に認められた、細長い双極性突起を有する腫瘍細胞が rosenthal fiber を伴い増殖する特徴は PA の診断基準に合致する。PA に高頻度で起こるとされる BRA-KIAA1549 の融合遺伝子を認めなかったが、成人発症ではむしろ稀⁵⁾とされており、PA の診断をゆるがすものではない。また、APA および GBM の両者において、IDH1/2, BRAF V600, 1p19q の欠失を認めなかった。一方で、非腫瘍部および APA では p53 の heterozygous mutation を認めたことから、p53 の germ line mutation を有していたと考えられた。GBM では同遺伝子の homozygous mutation を認めた。このことから、p53 の mutation により、APA から GBM へと悪性転化したことが示唆された。

TP53 は、肉腫、乳癌、白血病、副腎皮質癌、脳腫瘍などを伴う常染色体優性遺伝形式の家族性のがんが多発する Li-Fraumeni 症候群 (LFS) との関連が示されており、LFS の約 70%、Li-Fraumeni 様症候群 (LFL) の約 20% に TP53 の germ line mutation が認められている^{6,7)}。本症例では、LFS, LFL の臨床的な診断基準を満たしてはいないが、癌の家族歴 (父、兄、姉) を有することから、癌抑制遺伝子である TP53 の遺伝子異常が本病態に強く関連したと考えられる。

【結語】

免疫組織染色および遺伝子解析の結果、TP53 の germ line mutation を背景とした一連の腫瘍と考えた。また、APA から GBM へと変異する可能性を示唆する1例と考えた。

【文献】

- 1) Rodriguez FJ, Scheithauer BW, Burger PC et al (2010) Anaplasia in pilocytic astrocytoma predicts aggressive behavior. *Am J Surg Pathol* 34:147-160
- 2) Cykowski MD, Allen RA, Kanaly AC et al (2013) The differential diagnosis of pilocytic astrocytoma with atypical features and malignant glioma: an analysis of 16 cases with emphasis on distinguishing molecular features. *J Neurooncol* 115:477-486

- 3) Sasaki T, Saito R, Kumabe T et al (2013) Transformation of adult pilocytic astrocytoma to glioblastoma. *Brain Tumor Pathol*
- 4) Hayes VM, Dirven CM, Dam A et al (1999) High frequency of TP53 mutations in juvenile pilocytic astrocytoma indicates role of TP53 in the development of these tumors. *Brain Pathol* 9: 463-467
- 5) Hasselblatt M, Riesmeier B, Lechtape B et al (2011) BRAF-KIAA1549 fusion transcripts are less frequent in pilocytic astrocytomas diagnosed in adults. *Neuropathol Appl Neurobiol* 37: 803-806
- 6) Eeles RA (1995) Germline mutations in the TP53 gene. *Cancer Surv* 25:101-124.
- 7) Verley JM, McGown G, Thorncroft M et al (1997) Germ-line mutation of TP53 in Li-Fraumeni families: an extensive study of 39 families. *Cancer Res* 57:3245-3252

髄液鼻漏にて発症した下垂体腺腫の一例

A case of pituitary adenoma following cerebrospinal fluid rhinorrhea and pneumocephalus

東邦大学医学部脳神経外科学講座(佐倉)¹⁾、東邦大学医学部脳神経外科学講座(大森)²⁾

○安藤俊平¹⁾、宮崎親男¹⁾、黒木貴夫¹⁾、原田雅史¹⁾、
羽賀大輔¹⁾、根本匡章²⁾、周郷延雄²⁾、長尾建樹¹⁾

Department of Neurosurgery (Sakura) School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University¹⁾

Department of Neurosurgery (Omori) School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University²⁾

Shunpei Andoh¹⁾, Chikao Miyazaki¹⁾, Masashi Harada¹⁾, Daisuke Haga¹⁾, Takao Kuroki¹⁾,
Masaaki Nemoto²⁾, Nobuo Sugo²⁾, Takeki Nagao¹⁾

Abstract: Prolactinoma, accounting for 30-40% of pituitary adenoma, is characterized by a strong tendency of destructive invasion. We describe a patient with non-traumatic cerebrospinal fluid (CSF) rhinorrhea and pneumocephalus due to untreated prolactinoma. Case: A 59-year-old male consulted otolaryngologist in chief complaint with a large quantity of nasal discharge. He received a symptomatic treatment for the chronic rhinitis. Because computed tomography showed pneumocephalus with extensive destruction of sphenoid sinus and sella turcica, he consulted our department. Magnetic resonance (MR) imaging revealed pituitary tumor. He underwent transsphenoidal surgery followed ventricular drainage. Operative findings: The sellar floor was extensively destroyed, and thickened tumor capsule was confirmed. Tumor was dark pink, soft and hemorrhagic. We couldn't find CSF leakage point after partial removal of the tumor. Surgical hemostatic materials (Gelform, Surgicel, fibrin glue) were packed into the tumor cavity with reconstructed sellar floor by titanium plate. Postoperative course: On postoperative day 12, CSF rhinorrhea recurred during a walk. On postoperative day 19, he underwent transsphenoidal surgery again. The CSF leakage point was confirmed. The fascia, abdominal fat tissue, fibrin glue, and titanium plate were used for skull base reconstruction. CSF rhinorrhea and pneumocephalus disappeared subsequently. Discussion: CSF rhinorrhea developed by osteoclasia of prolactinoma. Extensive pneumocephalus occurred because invasion and destruction to a surrounding tissue aggravated. Whenever a large quantity of CSF rhinorrhea is detected, it is necessary to consider the basicranial destruction caused by the tumor.

Key words: pituitary adenoma, cerebrospinal fluid rhinorrhea, pneumocephalus.

【要旨】

プロラクチン産生腫瘍（以下 prolactinom）は下垂体腺腫の 30～40%を占め、他の腺腫に比べ浸潤傾向が強いという報告がある^{13,21,22)}。今回われわれは、髄液鼻漏で発症した未治療の下垂体腺腫の一例を経験したので、若干の文献的考察を加え報告する。【症例】59歳、男性。2週間前に多量の鼻汁を主訴に近医耳鼻科を受診し、慢性鼻炎の診断で薬物療法を受けていた。吐血を認めたため消化器内科を受診した。医師が多量の淡血性鼻汁を認めたため、頭部 CT を施行したところ、頭蓋底および鞍底部の骨破壊および著明な気脳症を認めた。ガドリニウム造影 MRI

では鞍底を破壊し蝶形骨洞を充満する下垂体腺腫を認めた。緊急に脳室ドレナージおよび経蝶形骨洞腫瘍摘出術を施行した。【手術所見】鞍底は破壊されており確認できず、硬膜様の腫瘍被膜を認めた。腫瘍は暗赤色で軟らかく、易出血性であった。明らかな髄液漏出部位は確認できず、Gelfoam、Surgicel、fibrin glue を充填すると髄液漏は停止した。チタンプレートを留置して鞍底部を形成し手術を終了した。【術後経過】術後経過は良好であったが、術後 12 日目に髄液漏再発を認めたため、術後 19 日目に経鼻経に髄液漏閉鎖術を施行した。髄液漏出部位が確認できたため、腹直筋筋膜、腹部脂肪組織、fibrin glue、チタン

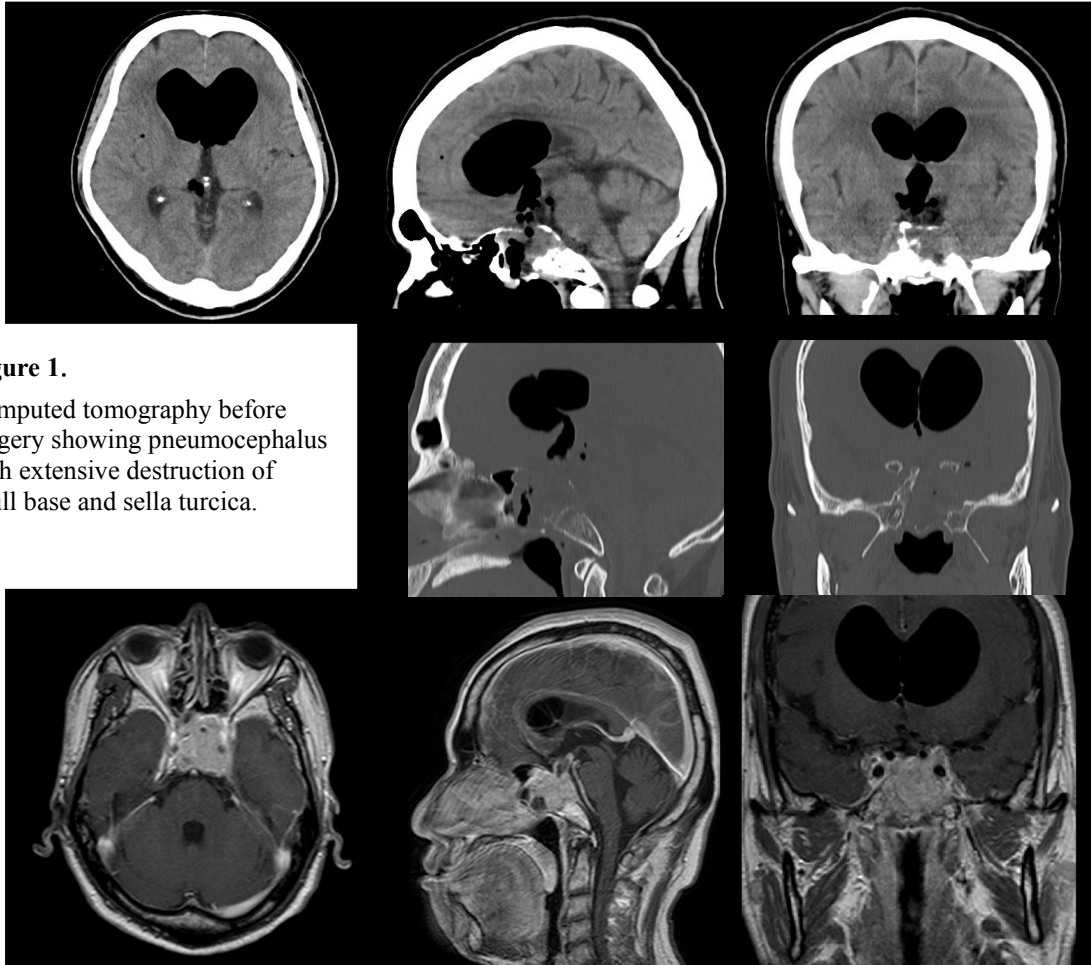


Figure 1.
Computed tomography before surgery showing pneumocephalus with extensive destruction of skull base and sella turcica.

Figure 2. Gadolinium-enhanced magnetic resonance images.
Note pituitary tumor extending to the left cavernous sinus, sphenoid sinus.

プレートを使用し鞍底部を形成した。術後は明らかな髄液鼻漏の再発なく経過し、独歩退院した。【考察】Prolactinoma の骨破壊により髄液鼻漏を発症、これを放置したことによって周囲組織への浸潤・破壊が進行し、側脳室への多量の気脳症を発症したと考えられた。多量の髄液鼻漏を認めた場合、腫瘍による頭蓋底破壊の可能性を考慮し、迅速な画像診断・手術加療が必要である。

【はじめに】

全国脳腫瘍統計によると、下垂体腺腫は髄膜腫、神経膠腫について3番目に頻度の高い腫瘍である。Prolactinoma は下垂体腺腫の30~40%を占め²⁴⁾、他の腺腫に比べ浸潤傾向が強い報告されている^{13, 21, 22)}。女性では無月経、乳汁漏出、不妊などの症状をきっかけとして診断されることが多いが、男性の場合は、腺腫増大に伴う視交叉圧排による視野障害や頭痛が初発症状となることが多い。Prolactinoma を含め、下垂体腺腫に合併する髄液漏は経蝶形骨洞手術後^{5, 12)}、薬物治療後^{1, 10, 12, 15)}、放射線治療後^{7, 11)}に発症

することはよく知られているが、髄液漏で発症する未治療の下垂体腺腫は非常に稀である。今回われわれは、髄液鼻漏および既往症にて発症した未治療の下垂体腺腫の一例を経験したので、若干の文献的考察を加えて報告する。

【症例】

患者：59歳、男性

主訴：髄液鼻漏

現病歴：2013年4月鼻汁が多量となったため近医耳鼻科を受診した。慢性鼻炎の診断で投薬を受けた。10日後少量の血性吐物を認めたため、当院消化器内科を受診した。医師が多量の淡血性鼻汁に気づき、頭部CTを依頼した。CT検査で気脳症を認めたため、当科紹介受診した。

現症：JCS I-3、受け答えは散漫だが指示動作は可能であった。体温 36.8 度、脈拍 60/分・整、血圧 160/102mmHg と高血圧を認めた。当科診察時は明らかな鼻漏を認めなかった。頭痛、嘔気も訴えず、その他神経学的異常所見は認めなかった。

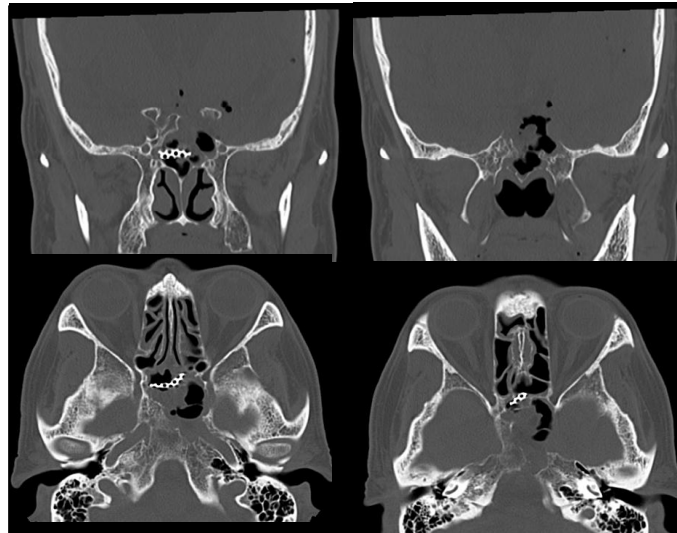


Figure 3. Computed tomography after first surgery showing the CSF pathway on the left side of titanium plate.

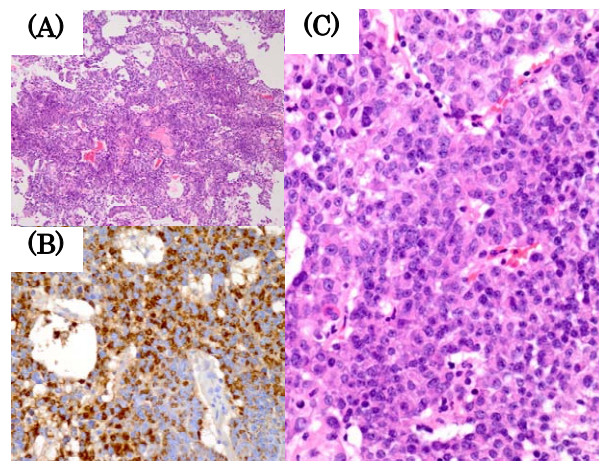


Figure 4. Pathological finding.

(A) (C) Diffuse growth pattern in a pituitary adenoma. (hematoxylin and eosin stain)
 (B) Diffuse cytoplasmic immunoreactivity for PRL. (PRL immunohistochemical stain)

検査所見：PRL 5674ng/ml と異常高値を認め、GH 1.251ng/ml、cortisol 21.5 μ g/dl、TSH 0.383 μ IU/ml であり（当院検査基準値は PRL 3.58~12.78ng/ml、GH 0.64ng/ml 以下、cortisol 4.0~19.3 μ g/dl、TSH 0.541~4.261 μ IU/ml）、その他のホルモン検査には異常を認めなかった。血液・生化学検査では白血球および CRP の軽度上昇を認めた。CT 検査では蝶形骨洞内に充満する腫瘍とトルコ鞍の破壊性変化を認め、両側側脳室前角に多量の空気が混入、著明な拡大を認めた (Figure 1)。ガドリニウム造影 MRI では、下垂体腫瘍が左海綿静脈洞に浸潤し、左内頸動脈を巻き込んでおり (Knosp grade 4)、蝶形骨洞、鞍上槽への浸潤・進展も認めた (Figure 2)。

臨床経過：入院 2 日後に緊急に脳室ドレナージお

よび経蝶形骨洞腫瘍摘出術を施行した。蝶形骨洞前面の鋤骨の上部は破壊されていた。下部の鋤骨を除去すると、硬膜様の腫瘍被膜を認めた。腫瘍被膜を切開すると暗赤色の軟らかい腫瘍が露出した。腫瘍は可及的に摘出したが、明らかな髄液漏出部位は認められず、Gelfoam、surgicel、fibrin glue で鞍底部を充填し、髄液漏出が止まったことを確認した。骨片とチタンプレートを留置して鞍底部を形成し手術を終了した。術後明らかな髄液漏はなく脳室内の空気も減少傾向であったが、術後 14 日目髄液漏再発を認めた。頭部 CT 検査で気脳症の再増悪を認め、チタンプレート左方より頭蓋内へ空気流入を確認した (Figure 3)。Spinal drainage を留置しベッド上安静としたが、髄液漏の改善が得られなかったため、術後

Table 1. Summary of reported cases of untreated pituitary adenoma presenting with CSF rhinorrhea

Author	Age/Sex	Tumor Classification	Duration of CSF rhinorrhea	Meningitis	Erosion of the sellar floor	Surgery	Adjuvant therapy	Postoperative follow up period
Giovanelli and Perria (1967) ⁸⁾	40/F	NF	8months	+	+	craniotomy	—	6months
Cole and Keene (1980) ⁶⁾	41/M	PRL	6months	—	+	TS	RT	12months
	28/F	PRL	3months	—	+	craniotomy followed by TS	RT	ND
	38/M	NF	17months	+	+	TS	RT	ND
Nutkiewicz et al. (1980) ¹⁷⁾	45/F	PRL, ACTH	3years	—	+	craniotomy	—	22months
Rothrock et al. (1982) ²³⁾	24/M	NF	10years	+	+	craniotomy followed by dural repair	—	18months
Bilo et al. (1984) ³⁾	42/M	PRL	2years	+	+	TS	—	ND
Obana et al. (1990) ¹⁸⁾	63/M	PRL	1year	—	+	transethmoidal	RT, BRC	6months
	36/F	PRL	2months	—	+	TS	RT, BRC	7years
Carroll et al. (1991) ⁴⁾	23/M	ACTH	8weeks	—	+	TS	—	ND
Bell (1991) ²⁾	40/M	NF	6weeks	—	ND	TS	RT	12months
Ohtkara et al. (2000) ¹⁹⁾	80/F	PRL	3months	—	+	TS	—	14months
Hanel et al. (2001) ⁹⁾	26/F	PRL	1year	+	+	TS	BRC	30months
Telera et al. (2007) ²⁵⁾	36/F	PRL	2years	+	+	TS	Cabergoline	20months
Makin et al. (2011) ¹⁴⁾	68/M	GH	2days	—	+	TS	Octreotide	ND
Goyal et al. (2012) ¹⁶⁾	35/M	NF	6months	—	+	TS	—	10months
Present case	59/M	PRL	2weeks	—	+	TS	Cabergoline	21months

BRC: bromocriptine, ND: not described, NF: non-functional, RT: radiotherapy, TS: transsphenoidal surgery

19 日目に再度経蝶形骨洞的に髄液漏閉鎖術を施行した。内視鏡にてチタンプレート留置部の左方に髄液漏出部を確認し、ここに腹直筋筋膜、腹部脂肪組織、fibrin glue を充填し、チタンプレートで鞍底部を形成した。髄液漏出の停止を確認して手術を終了した。その後は髄液鼻漏・気脳症の再発なく経過し、術後 55 日目に独歩退院した。

病理所見：大型類円形核と好酸性～両染色性、一部は嫌色素性の細胞質を有する腫瘍細胞が、びまん性、シート状に増殖していた。免疫染色では、PRL がびまん性に陽性で、その他のホルモンの免疫染色はいずれも陰性で、MIB-1 labeling index は 1%以下であった (Figure4)。

【考察】

下垂体腺腫に合併する髄液漏は経蝶形骨洞手術後や薬物治療後、放射線治療後に発症することはよく知られている。しかし、髄液漏で発症する未治療の下垂体腺腫は非常に稀であり、われわれが渉猟し得た限りでは、本症例を含め 17 例であった (Table1)。記載のない 1 例を除く 16 例全例に鞍底部の破壊を認めており、術前に髄液漏を認めていた期間は 2 日から 3 年と様々であった。下垂体の種類では prolactinoma 9 例、非機能性腫瘍 5 例、ACTH 産生腫瘍 1 例、GH 産生腫瘍 1 例、PRL・ACTH 腫瘍産生 1 例と、未治療の下垂体腺腫に発生する髄液漏としては prolactinoma が約半数を占めており、浸潤傾向が強い

という報告と一致する。精査は男性 10 例、女性 7 例で、女性の 6 割が Prolactinoma であった。17 例全例に手術が施行され、最近の症例は術後薬物療法が追加されている。また、発症年齢は 23 歳から 80 歳までであるが、13 例が 20 歳から 45 歳と比較的若年に多い傾向を認めた。

未治療の下垂体腺腫に髄液漏が起こる機序は明らかではないが、4 つの機序が考えられている。①腫瘍が鞍底部もしくは頭蓋底の骨に浸潤し髄液漏を生じる²⁰⁾。②鞍隔膜とくも膜が癒着し、下垂体腫瘍が下方へ拡大して蝶形骨洞へ髄液が流れやすくなる¹⁷⁾。③髄液漏を防いでいた腫瘍が壊死に陥ることにより縮小し、髄液が漏出する⁷⁾。女性の症例では、閉経によるエストロゲン減少により腫瘍が縮小することもよる機序も考えられている。④腫瘍による頭蓋内圧亢進により、解剖学的に脆弱な部位から漏出する¹⁸⁾。

本症例の場合は、2 週間より前から時々の鼻汁を認めており、prolactinoma の下方進展により鞍底部・頭蓋底部の破壊が起こり、髄液漏を発症していたものと推察できる。また頭部 CT からの側脳室前角内の空気貯留の機序として、第 3 脳室底の近傍まで浸潤した腫瘍に壊死が起こり、第 3 脳室底部に塵孔が形成され、蝶形骨洞から第 3 脳室底部を経て空気が側脳室前角へ貯留したと推測した。また臨床的には、髄液漏出に伴い多量の空気が脳室内に入り気脳症を発症し、頭蓋内圧亢進をきたして意識障害が出現し

たものと考えられた。

報告例 17 例全例に手術が施行されており、腫瘍摘出術および頭蓋底形成は必要不可欠な手術と考えられた。われわれの症例では、初回手術時には髄液漏出部位を同定するのは困難であり再手術を要したが、退院後は髄液漏の再発なく、源治亜は元気に社会復帰している。

【結語】

髄液鼻漏で発症した prolactinoma の 1 例を報告した。鞍底部および頭蓋底部の骨破壊により髄液鼻漏を発症し、これを放置したことによって周囲組織への浸潤・破壊が進行し、側脳室への広範な気脳症を発症したと考えられた。多量の髄液鼻漏を認めた場合、腫瘍による頭蓋底破壊の可能性を考慮し、迅速な画像診断・手術加療が必要である。

【文献】

- 1) Barlas O, Bayindir C, Hepgul K, Can M, Kiris T, Sencer E, Unal F, Aral F: Bromocriptine-induced cerebrospinal fluid fistula in patients with macroprolactinomas: Report of three cases and a review of the literature. *Surg Neurol* 41: 486-489, 1994
- 2) Bell MM: Transient cerebrospinal fluid rhinorrhea, blurred vision, and headache as presenting symptoms of pituitary adenoma. *J Am Board Fam Pract* 4: 347-349, 1991
- 3) Bilo HJ, Ponssen H, van der Veen EA, Wolbers JG: Rhinorrhea as the presenting symptom of pituitary adenoma. *Clin Neurol Neurosurg* 86: 47-49, 1984
- 4) Carroll WR, Cohen S, Sullivan MJ: Spontaneous CSF rhinorrhea: An unusual presentation of a pituitary adenoma *Otolaryngol Head Neck Surg* 104: 380-383, 1991
- 5) Ciric I, Ragin A, Baumgartner C, Pierce D: Complications of transsphenoidal surgery: Results of a national survey, review of the literature, and personal experience. *Neurosurgery* 40: 225-237, 1997
- 6) Cole IE, Keene M: Cerebrospinal fluid rhinorrhea in pituitary tumors. *J R Soc Med* 73: 244-254, 1980
- 7) Fager CA: Nature and treatment of cerebrospinal fluid rhinorrhea in pituitary tumors. *Surg Clin North Am* 53: 283-290, 1973
- 8) Giovanelli M, Perria C: Cerebrospinal rhinorrhea with pituitary adenoma. (Case report). *Acta Neurochir (Wien)* 16: 261-266, 1967
- 9) Hanel RA, Prevedello DM, Correa A, Antoniuk A, Araujo JC: Cerebrospinal fluid fistula as the presenting manifestation of pituitary adenoma: Case report with a 4-year follow-up. *Arq Neuropsiquiatr* 59: 263-265, 2001
- 10) Hildebrandt G: CSF rhinorrhea after dopamine agonist treatment for invasive macroprolactinoma. *Surg Neurol* 34: 133, 1990
- 11) Hudson WR, Hughes LA: Cerebrospinal rhinorrhea. *South Med J* 68: 1520-1523, 1975
- 12) Landolt AM: Cerebrospinal fluid rhinorrhea: a complication of therapy for invasive prolactinomas. *Neurosurgery* 11: 395-401, 1982
- 13) Majos C, Coll S, Aguilera C, Acebes JJ, Pons LC: Imageing of giant pituitary adenomas. *Neuroradiology* 40: 651-655, 1998
- 14) Makin V, Hatipoglu B, Hamrahian AH, Arrossi AV, Knott PD, Lee JH, et al. Spontaneous cerebrospinal fluid rhinorrhea as the initial presentation of growth hormone-secreting pituitary adenoma. *Am J Otolaryngol* 32: 433-437, 2011
- 15) Nakajima T, Tamura T, Kuroki M, Tanaka R, Hayashi H: A case of prolactinoma presenting with CSF rhinorrhea and CSF otorrhea during bromocriptine therapy. *No shinkei Geka* 20: 1091-1095, 1992.
- 16) Nishant Goyal, Sachin A Borkar, Deepak Agrawal, Ashok K Mahapatra. Pituitary adenoma presenting with Cerebrospinal fluid rhinorrhea as the sole symptom. *Neurology india* 60: 307-308, 2012
- 17) Nutkiewics A, DeFeo DR, Kohut RI, Fierstein S. Cerebrospinal fluid rhinorrhea as a presentation of pituitary adenoma. *Neurosurgery* 6: 195-197, 1980
- 18) Obana WG, Hodes JE, Weinstein PR, Wilson CB. Cerebrospinal fluid rhinorrhea in patients with untreated pituitary adenoma: Report of two cases. *Surg Neurol* 33: 336-340, 1990
- 19) Ohtakara K, Matsubara T, Kojima T, Taki W, Waga S. Cerebrospinal fluid rhinorrhea associated with untreated prolactinoma: Case report. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 40: 413-418, 2000
- 20) Ommaya AK. Cerebrospinal fluid fistula and pneumcephalus. in wilkins R, Rengachary S (eds): *Neurosurgery*, ed 2, vol II. New York, McGraw hill, 1996, pp 2773-278
- 21) Popadic A, Witzmann A, Buchfelder M, Eiter H, Komminoth P: Malignant prolactinoma: Case report and review fo the literature. *Surg Neurol* 51: 47-55, 1999
- 22) Ravichandran TP, Bakshi R, Heffner RR, Gibbons KJ, Bates VE, Durante DJ, Kinkel WR: Aggressive giant pituitary adenoma presenting as a

nasopharyngeal mass: magnetic resonance imaging and pathological findings. *J Neurooncol* 41: 71-75, 1999

23) Rothrock JF, Laguna JF, Reynolds AF.

CSF rhinorrhea from untreated pituitary adenoma.

Arch Neurol 39: 442-443, 1982

24) Simona Grozinsky-Glasberg, Ilan Shimon: Unusual

clinical presentations of giant prolactinomas.

Pituitary 14: 340-344, 2011

25) Telera S, Conte A, Cristalli G, Occhipinti E, Pompili

A. Spontaneous cerebrospinal fluid rhinorrhea as

the presenting symptom of sellar pathologies: Three

demonstrative cases. *Neurosurg Rev* 30: 78-82,

2007

脊髄播種・転移を起こした膠芽腫の臨床学的・組織学的検討

Clinical features of spinal cord/medulla metastases of glioblastoma

神戸大学大学院医学研究科 脳神経外科学

○篠山隆司、田中一寛、水川 克、溝脇 卓、甲村英二

Department of Neurosurgery, Kobe University Graduate School of Medicine

Takashi Sasayama, Kazuhiro Tanaka, Katsu Mizukawa, Takashi Mizowaki, Eiji Kohmura

【要旨】

膠芽腫の治療中に症候性の脊髄播種／転移を起こす頻度は 0.4～2%と報告されている。神戸大学医学部附属病院で治療された膠芽腫患者で、症候性の脊髄播種／転移を起こした患者について、臨床像および組織像を後方視的に解析した。8 例 (9.3%) で症候性の脊髄播種／転移病変を認めた。初回手術から脊髄転移／播種までの期間は 4 か月～25 か月 (中央値 8.9 か月)、脊髄転移／播種から死亡までの期間は 1 か月～3 か月 (中央値 3 か月) であった。転移部位としては延髄下部、頸胸髄に多い傾向であった。脊髄播種／転移を認めた 8 例と脊髄転移／播種認めなかった 78 例とで、生存期間 (OS) を比較すると、生存期間中央値は播種／転移 (+) で 10 か月、播種／転移 (-) で 22 か月と、播種／転移 (+) で有意に OS が短かった (Log-rank test: $p=0.018$)。しかし、無増悪生存期間 (PFS) に関しては、中央値が播種／転移 (+) で 6 か月、播種／転移 (-) で 10 か月と、両群で有意差は認めなかった (Log-rank test: $p=0.15$)。組織学的検討では、免疫組織学的検討では、多くの症例で Olig2 が陽性で、p53 の発現も 4 例で強陽性であった。EGFR の発現は 3 例で陽性であったが、EGFR の発現よりも p53 の発現が強い傾向があると思われた。これまでの報告と同様、脊髄播種／転移した膠芽腫は予後が極めて不良であった。脊髄播種／転移症例数が少なく断定的なことは言えないが、播種／転移を起こす膠芽腫には組織学的な特徴を有すると思われた。

Key words: spinal metastases, dissemination, glioblastoma, symptomatic

【はじめに】

膠芽腫 (Glioblastoma:GBM) の治療中に症候性の脊髄播種／転移を起こす頻度は稀で、0.4～2%と報告されている¹⁻³⁾。しかし、画像診断の進歩、テモゾロミドやベバシズマブなどの新規抗癌剤の導入、術中ナビゲーションや覚醒下手術、各種モニタリングなどによる手術法の変化などで、予後が改善されたこと等により、症候性脊髄播種／転移は以前より増加していることが予想される。一方、脊髄播種／転移の原因・機序や組織学的特徴はいまだ不明な点が多い。今回我々は、神戸大学医学部附属病院で治療した膠芽腫患者で、症候性脊髄播種／転移を起こした膠芽腫患者について、後方視的に解析し、臨床的特徴などについて検討した。

【対象・方法】

2006 年 9 月から 2013 年 6 月までの約 7 年間で、神戸大学医学部附属病院で治療された 103 例の膠芽

腫患者のうち、放射線・テモゾロミドの初期治療後も神戸大学医学部附属病院で治療あるいは外来経過観察され、画像的な追跡が可能であった 86 例を対象とした。症候性脊髄転移／播種の定義は、延髄の Luschka 孔、Obex より下位の延髄および脊髄表面に MRI の T1 ガドリニウム造影写真で線状の造影病変を認めるもの、あるいは同表面に造影される mass を認めるものでかつ、下部延髄あるいは脊髄症状を有する症例とした。脊髄播種／転移を起こした患者の播種／転移部位、手術方法、初回手術から播種／転移までの期間、播種／転移からの予後、組織学的所見 (H.E.染色所見、IDH 変異、MGMT プロモーターメチレーション等) 免疫組織学的所見 (Olig2, p53, EGFR, MIB-1) 等について検討した。また、脊髄播種／転移症例と播種／転移を起こしていない症例とで全生存期間 (OS)、無増悪生存期間 (PFS) を Kaplan-Meier 法および Log-rank test で比較した。

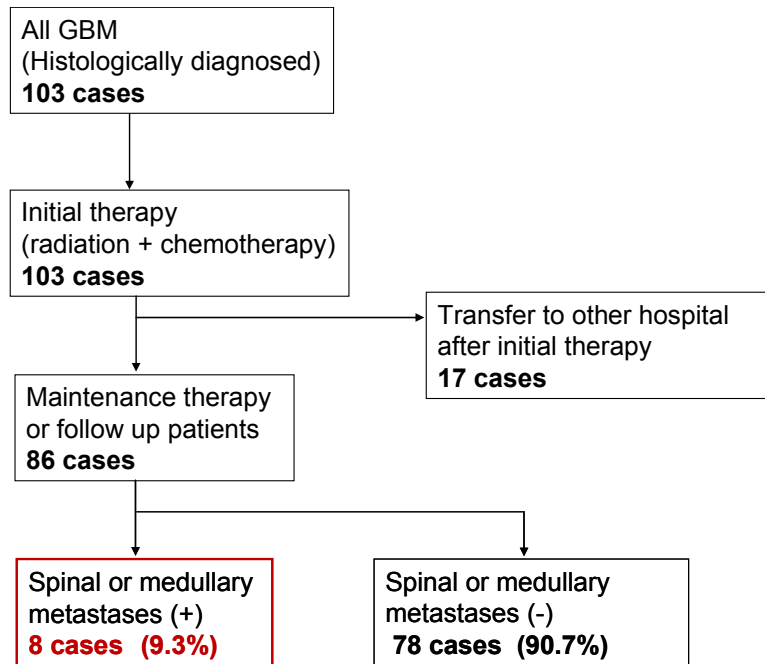


Figure 1.

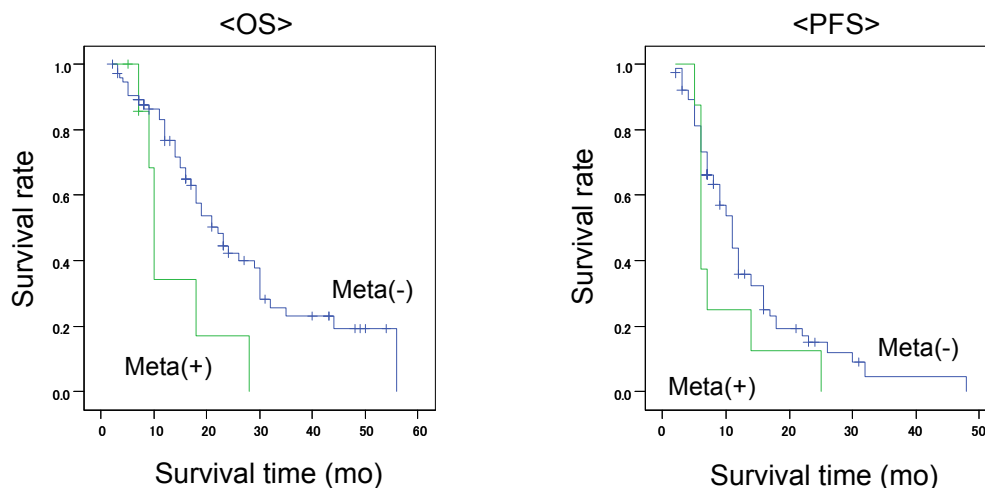


Figure 2.

【結果】

8 例 (9.3%) で脊髄あるいは延髄下部に播種／転移によると思われる造影病変を認めた (Fig.1)。8 例の脊髄あるいは脳幹に転移した症例の臨床像を Table 1 に示す。平均年齢は 54 歳、男性 7 例、女性 1 例。初発発生部位は frontal 2 例、parietal 3 例、temporal 2 例、小脳 1 例であった。手術は 2 例は部分摘出 (partial resection) で、6 例は全摘 (gross total resection) であった。摘出時に脳室あるいは脳槽の開放を認めたのは 5 例あった。治療はすべて放射線療法 (60Gy, 2Gy x 30Fr) + テモゾロミド (75mg/m²、連日投与) で、7 例はインターフェロンを併用した。

初回手術から脊髄転移／播種までの期間は 4 か月

～25 か月で平均 8.9 か月 (Table 1)。転移部位としては延髄下部、頸胸髄に多い傾向であった。播種／転移時の初発病変の状態は、3 例は再発・進行を認めしたが、5 例は増大無く stable な状態であり、そのうち 3 例は造影病変も認めず初発病変のコントロールは良好であった。脊髄転移／播種に対する積極的治療は 2 例のみ行い、1 例は摘出術および化学療法 (カルボプラチン／エトポシド)、1 例は放射線療法 (IMRT) が施行された。また、残りの 6 例は Best supportive care のみであった。脊髄転移／播種から死亡までの期間は 1 か月～3 か月 (平均 3 か月) であった。髄液検査は 5 例で施行され、蛋白上昇、LDH 上昇を認めた (Table 2)。

Table 1. Clinical characteristics in the patients with spinal dissemination/metastases

Pt. No.	Age/Sex	Location	Surgery	Ventricle open	Initial treatment	Time from surgery to meta (months)	Location of meta	Intracranial lesion	Treatment to meta	Time from meta to death (months)	Status
1	68/M	lt. cerebellum	PR	-	RT/TMZ/IFN	25	Cervical	SD	-	3	dead
2	24/M	rt. frontal	GTR	-	RT/TMZ/IFN	6	Medulla	SD	Surgery, CT	4	dead
3	71/F	lt. parietal	PR	+	RT/TMZ/IFN	6	Medulla	PD	-	1	dead
4	57/M	rt. temporal	GTR	+	RT/TMZ	6	Cervical/Thoracic	PD	-	3	dead
5	58/M	lt. parietal	GTR	-	RT/TMZ/IFN	14	Cervical/Thoracic	SD	-	4	dead
6	67/M	rt. frontal	GTR	+	RT/TMZ/IFN	7	Medulla	PD	-	3	dead
7	38/M	lt. temporal	GTR	+	RT/TMZ/IFN	7	Whole spine	SD	RT(IMRT)	-	alive
8	51/M	rt. parietal	GTR	+	RT/TMZ/IFN	4	Whole spine	SD	-	-	alive

PR: partial resection, GTR: gross total resection, RT: radiation therapy, TMZ: temozolomide, IFN: interferon, SD: stable disease, PD: progressive disease

Table 2. CSF study of the patients with spinal dissemination/metastases

Pt. No.	Cytology Papanicolaou	Cell count (/mm ³)	Protein (mg/dl)	Suguer (mg/ml)	LDH (IU/l)
1	-	-	-	-	-
2	Class II	1	124	77	148
3	-	-	-	-	-
4	Class II	10	707	50	129
5	Class IV	100	360	32	51
6	Class II	5	148	35	-
7	-	-	-	-	-
8	Class III	-	1395	<1	650

Table 3. Histological examination

Pt. No.	MIB-1 index	MGMT Methy.	IDH mut.	Olig2	p53	EGFR
1	41%	-	-	++	++	-
2	80%	-	-	++	++	+
3	60%	+	-	++	+	+
4	50%	-	-	+	-	++
5	40%	-	-	++	-	-
6	15%	+	-	+	+	+
7	90%	+	+	-	++	-
8	40%	-	-	+	++	-

画像的フォローが可能であった患者 86 例のうち、脊髄転移/播種を認めた 8 例 (Meta(+)) と脊髄転移/播種認めなかった 78 例 (Meta(-)) とで、生存期間 (Overall Survival (OS)) を比較すると、生存期間中央値は Meta(+) で 10 か月、Meta(-) で 22 か月と、Meta(-) で有意に OS が短かった (Fig.2)。 (Log-rank test: $p=0.018$)。しかし、無増悪生存期間 (PFS) に関しては、中央値は Meta(+) で 6 か月、Meta(-) で 10 か月と、両群で有意差は認めなかった (Log-rank test: $p=0.15$) (Fig.2)。

組織学的検討では、脊髄播種/転移の症例では初発部膠芽腫組織において、giant cell あるいは small cell が多い傾向が認められた (Fig.3)。また、多核細胞を有する膠芽腫が多い傾向を認めた。MIB-1 は平均 52% と高値であった (Table 3)。MGMT のプロモーターメチレーションは 3 例で陽性、5 例で陰性。IDH 変異は 1 例で IDH1 の変異 (R132H) が認められ、この症例は diffuse astrocytoma より悪性化した secondary GBM であった。免疫組織学的検討では、多くの症例で Olig2 が陽性で、p53 の発現も 4 例で強陽性であった。EGFR の発現は 3 例で陽性であったが、EGFR の発現よりも p53 の発現が強い傾向があると思われた。

(症例提示)**(Case 7)**

38 歳、男性。5 年前に左の側頭葉の diffuse

astrocytoma の摘出術を他院で施行される。腫瘍の再発、悪性転化 (膠芽腫) を認めた (Fig.4a)。組織所見は small cell glioblastoma に一致し (Fig.3)、IDH1 変異陽性、MGMT プロモーターメチレーション陽性であった。通常の放射線療法+テモダール療法を施行後、テモダール維持療法を 5 回施行後に四肢のしびれ、膀胱障害が出現。脊髄 MRI にて頸胸髄に広範に広がる転移病変が認められた (Fig.4b)。FDG-PET でも頸胸髄に強く集積が認められた (Fig.4c)。一方、頭蓋内病変は造影される腫瘍陰影は認めず、Stable disease の状態であった。脊髄病変に対して IMRT を施行し、四肢のしびれ、膀胱直腸障害は改善した。

【考察】

頭蓋内膠芽腫の脊髄播種/転移に関する論文は意外と少ない¹⁻⁶⁾。Lawton らの 42 例を review した報告では、転移部位としては胸髄が多く、平均年齢は 43 歳、手術から転移までの期間は平均 13.3 か月、転移から死亡までの期間は 3.7 か月、初回治療からの全生存期間は 17.2 か月であったと報告している¹⁾。また、Shahideh らは、症候性の脊髄転移を起こした膠芽腫患者の review を行い、平均は平均 37 歳、初回手術から転移までの期間は中央値 14 か月、転移から死亡までの期間は中央値 4.25 か月と報告している²⁾。脊髄転移に対する治療は半数以上で放射線治療が施行されているが、約 20% の症例は無治療であった。Shahideh らの報告は、我々の結果とほぼ一致していた。

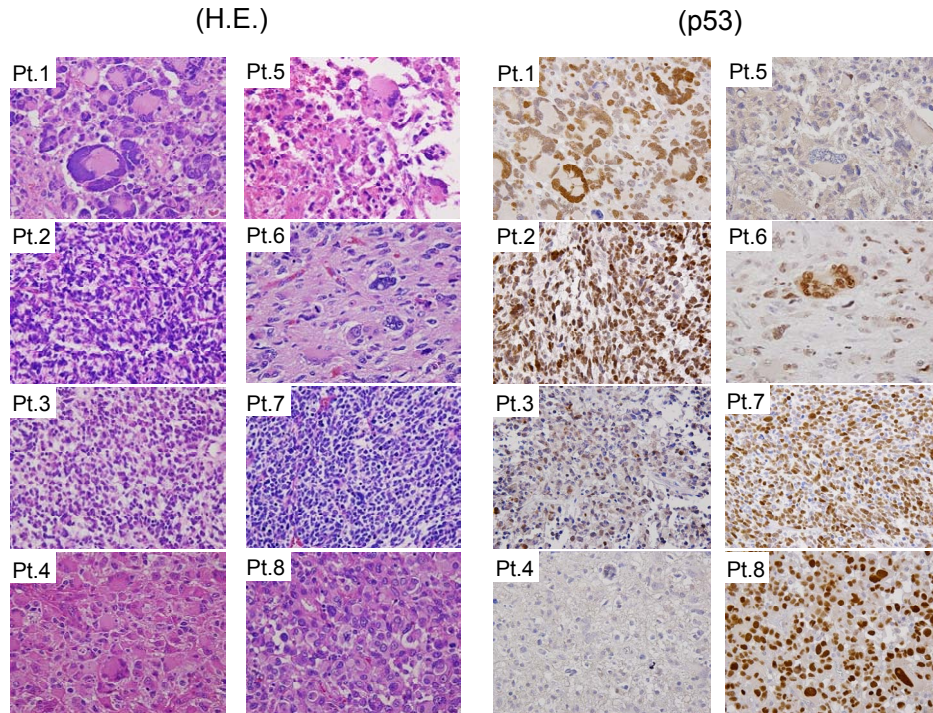


Figure 3.

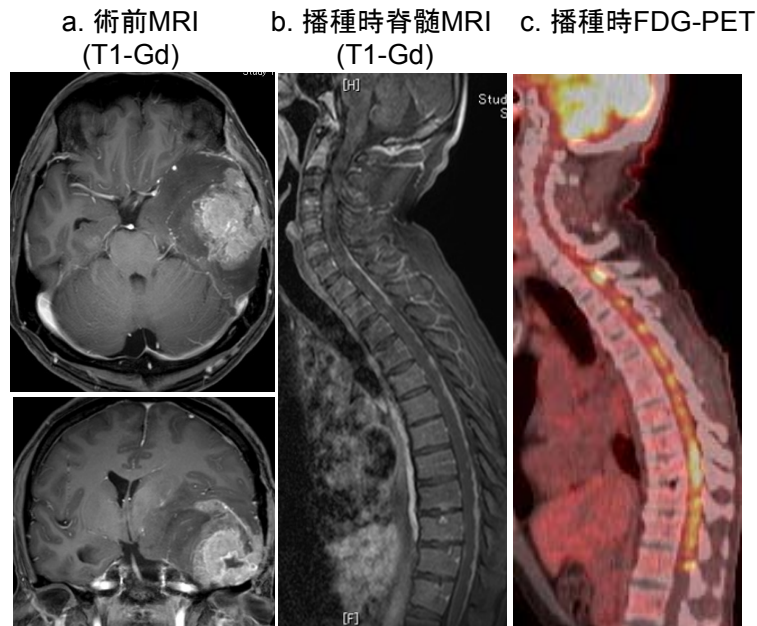


Figure 4.

脊髄転移のメカニズムとしては、腫瘍細胞の基底膜や脈絡叢への浸潤が言われているが、明確な回答は得られていない。開頭術（特に2回以上の手術）や脳室近傍の腫瘍の存在なども脊髄播種／転移のリスク因子との報告もあるが⁷⁻⁹⁾、Shahidehらのreviewでは脳室近傍腫瘍はリスク因子では無かった。また、我々の解析でも腫瘍の発生部位は明らかなリスク因子とは言えなかった。摘出時の脳室・脳槽の開放は

脊髄播種／転移を起こした8例中5例で認められたが、脳室が開放された症例でも脊髄播種／転移を起こさない症例もあり、脳室の開放との関連はまだまだ不明である。PTENの変異やMIB-1の高い膠芽腫は脊髄播種／転移を起こしやすいとの報告もある。またMaslehatyらは、GFAPの発現の弱い膠芽腫は未分化なために脊髄播種／転移を起こしやすいと報告している¹⁰⁾。我々の解析ではGFAPの発現は行ってい

ないが、Olig2 の発現量は通常の膠芽腫に比べて高い印象であった。また、EGFR 陽性よりも p53 陽性の腫瘍が多いのが特徴的であった。膠芽腫は 4 つのサブタイプに分類されると言われているが¹¹⁾、脊髄播種／転移を起こしやすい膠芽腫は 4 つのサブタイプのなかのどれかに属している可能性もあり、今後さらに詳細な解析を行う必要があると思われる。今後は、遺伝子解析等で脊髄播種／転移を起こし易い膠芽腫を早期に同定できるよう、さらなる研究が必要である。

【結語】

頭蓋内 GBM で症候性の脊髄あるいは延髄下部への播種あるいは転移の頻度は 9.3% であり、比較的多いことが判明した。初回手術から脊髄播種／転移までの期間は平均約 9 か月であり、転移から死亡までの期間は平均 3 か月と非常に短く予後不良であり、これまでの報告とほぼ同様であった。脳室や脳槽の開放が無い症例でも転移を認めたが、症例数が少ないため脳室／脳槽の開放と播種／転移との関連性は明らかとはならなかった。MGMT のメチレーションとの関連性は無く、p53 の発現が高い症例が多い傾向を認めたが、播種／転移との関連性についてはさらなる解析が必要である。

【文献】

- 1) Lawton CD, Nagasawa DT, Yang I, Fessler RG, Smith ZA. Leptomeningeal spinal metastases from glioblastoma multiforme: treatment and management of an uncommon manifestation of disease. *J Neurosurg Spine*. 2012 Nov;17(5):438-48.
- 2) Shahideh M, Fallah A, Munoz DG, Loch Macdonald R. Systematic review of primary intracranial glioblastoma multiforme with symptomatic spinal metastases, with two illustrative patients. *J Clin Neurosci*. 2012 Aug;19(8):1080-6.
- 3) Malignant spinal cord compression in cerebral glioblastoma multiforme: a multicenter case series and review of the literature. Tinchon A, Oberndorfer S, Marosi C, Rudà R, Sax C, Calabek B, Grisold W. *J Neurooncol*. 2012 Nov;110(2):221-6.
- 4) Bae JS, Yang SH, Yoon WS, Kang SG, Hong YK, Jeun SS. The clinical features of spinal leptomeningeal dissemination from malignant gliomas. *J Korean Neurosurg Soc*. 2011 Jun;49(6):334-8.
- 5) Amitendu S, Mak SK, Ling JM, Ng WH. A single institution experience of the incidence of extracranial metastasis in glioma. *J Clin Neurosci*. 2012 Nov;19(11):1511-5.
- 6) Birbilis TA, Matis GK, Eleftheriadis SG, Theodoropoulou EN, Sivridis E. Spinal metastasis of glioblastoma multiforme: an uncommon suspect? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010 Apr 1;35(7):E264-9.
- 7) Buhl R, H. Barth, H.H. Hugo et al. Spinal drop metastases in recurrent glioblastoma multiforme. *Acta Neurochir (Wien)*, 140 (1998), pp. 1001-1005
- 8) Fakhrai N, T. Czech, K. Diekmann et al. Glioblastoma with spinal seeding *Strahlenther Onkol*, 180 (2004), pp. 455-457
- 9) Onda K, R. Tanaka, N. Takeda. Spinal metastases of cerebral glioblastoma: the value of computed tomographic metrizamide myelography in the diagnosis. *Surg Neurol*, 25 (1986), pp. 399-405
- 10) Maslehaty H, Cordovi S, Hefti M. Symptomatic spinal metastases of intracranial glioblastoma: clinical characteristics and pathomechanism relating to GFAP expression. *J Neurooncol*. 2011 Jan;101(2):329-33.
- 11) Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, Wang V et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell*. 2010 Jan 19;17(1):98-110

これまでの悪性 Glioma 手術を振り返って

The Review of Our Surgical Treatment for Patients with High-grade Gliomas

北海道大学 医学部 脳神経外科^{a)}、同 病理学講座^{b)}

○小林浩之^{a)}、山口 秀^{a)}、寺坂俊介^{a)}、茂木洋晃^{a)}、遠藤将吾^{a)}、
菅野宏美^{b)}、西原広史^{b)}、田中伸哉^{b)}、宝金清博^{a)}

Department of Neurosurgery, Graduate School of Medicine, Hokkaido University^{a)}
Department of Pathology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University^{b)}

Hiroyuki KOBAYASHI^{a)}, Shigeru YAMAGUCHI^{a)}, Shunsuke TERASAKA^{a)}, Hiroaki MOTEGI^{a)},
Shogo ENDOI^{a)}, Hiromi KANNO^{b)}, Hiroshi NISHIHARA^{b)}, Shinya TANAKA^{b)}, Kiyohiro HOUKIN^{a)}

Abstract:

OBJECTIVE: We reviewed the relationship between extent of resection and survival of patients with high-grade gliomas with special consideration of an oligodendroglial component.

METHODS: A retrospective review was performed on 160 adult patients with histological diagnosis of high-grade gliomas including highgrade astrocytomas or oligodendroglial tumors since 2000. Extent of resection was assessed by early post-operative magnetic resonance imaging and classified as complete resection, incomplete resection and biopsy. Measured outcomes were overall survival and progression-free survival. The independent association of extent of resection and survival was analyzed by the multivariate proportional hazard model adjusting for prognostic factors.

RESULTS: The lesions were classified as high-grade astrocytomas in 93 patients and highgrade oligodendroglial tumors in 67 patients. In high-grade astrocytomas, the median survival after complete resection (n=36), incomplete resection (n=36) and biopsy (n=21) was 23.4, 15.3 and 12.6 months, respectively. Complete resection was independently associated with increased overall survival (P<0.001) and progression-free survival (P=0.002) compared with incomplete resection, while incomplete resection was not associated with survival benefit compared with biopsy by multivariate analysis. On the other hand, in high-grade oligodendroglial tumors, the majority of patients were still alive and there is no significant difference in the survival between complete resection (n=24) and incomplete resection (n=33), while even incomplete resection had a significantly longer overall survival (P<0.001) and progression-free survival (P=0.006) compared with biopsy (n=10).

CONCLUSIONS: Maximal cytoreduction improves the survival of high-grade gliomas, although our data indicated that the impact of extent of resection in high-grade astrocytomas is different from that in high-grade oligodendroglial tumors.

Key words: malignant glioma, oligodendroglial tumor, surgical resection, survival

【要旨】

悪性神経膠腫治療では手術摘出率が予後に大きくかわるが、その影響は astro 系と oligo 系で同じなのであろうか。今回我々はこの点に着目し後方視的に解析を行った。

対象は 2000 年以降当院で治療された成人悪性神経膠腫 160 例。組織学的には High-grade astrocytoma と oligodendroglial tumor の 2 群に、摘出度は完全摘

出、非完全摘出、生検の 3 群に分類し、全生存期間、無増悪生存期間を検討した。

High-grade astrocytoma 群では完全摘出群、非完全摘出群、生検群での全生存期間はそれぞれ 23.4、15.3、12.6 ヶ月であった。完全摘出群が全生存期間、無増悪生存期間ともに有意に予後が延長した。一方、high-grade oligodendroglial tumor 群においては完全摘出群と非完全摘出群の間に予後の差は検出できな

った。他方、非完全摘出が生検群よりも有意に予後の延長を認めた。

この結果から摘出度の予後への影響は astro 系と oligo 系では異なることが示唆された。

【はじめに】

近年、アミノレブリン酸による術中蛍光診断^(1, 2)、ナビゲーションを用いた fence-post 法⁽³⁾、電気生理学的モニタリングの精度向上⁽⁴⁾、術中 MRI⁽⁵⁾などの技術的革新によって神経膠腫の手術は進歩を遂げてきた。それは、悪性神経膠腫、特に退型形成性星細胞腫 (anaplastic astrocytoma; AA) や 膠芽腫 (glioblastoma; GBM)、つまり high-grade astrocytoma の治療において摘出率が最も重要な予後因子であることが数々の臨床研究で明らかにされているからである^(2, 6-12)。

一方、退型形成性乏突起細胞腫 (anaplastic oligodendroglioma; AO)・乏突起星細胞腫 (anaplastic oligoastrocytoma; AOA) などいわゆる high-grade oligodendroglial tumors においては、摘出率が予後に与える影響がはっきりしていない⁽¹³⁻¹⁶⁾。なぜなら oligo 系細胞を含む神経膠腫は一般的に放射線化学療法への感受性が astro 系腫瘍よりも高いと考えられているからである⁽¹⁷⁻¹⁹⁾。最近の報告では、GBM であっても oligo 系細胞を含む組織型が予後良好ではないかと示唆されている⁽²⁰⁻²⁴⁾。我々は oligo 系細胞を含有する GBM 群は生物学的にも古典的な astro 系 GBM とは生物学的に異なるのではないかと考えている。

そこで本研究では悪性神経膠腫における手術摘出度と予後の関係が astro 系と oligo 系で同じなのであろうかという点に着目し後方視的に解析を行った。

【対象・方法】

2000年1月から2011年2月までに北海道大学およびその関連施設において外科治療を行った新規成人 (20歳以上) 悪性神経膠腫 (WHO grade 3 および grade 4) を対象とした。全例摘出もしくは生検術にて組織型が GBM, AA, AO, AOA と診断されている。さらに今回の解析にあたり2人の病理医が2007年のWHO分類を用いて全症例の再診断を実施した。乏突起細胞成分 (oligodendroglial component; OC) を含む GBM は組織学的な判断のみで遺伝子学的情報は用いなかった。対象患者は全て術後6週間以内に通常の局所照射 (2Gy/日、週5日間、計54-60Gy) を施行されている。脳幹部病変や gliomatosis cerebri、診断から6カ月以上の経過観察がなされていない症例は除外した。大多数の患者はさらに後療法として化学療法を行われていて、2006年以前はニトロソウレア (ACNU)、または白金製剤 (CDDP) を基本と

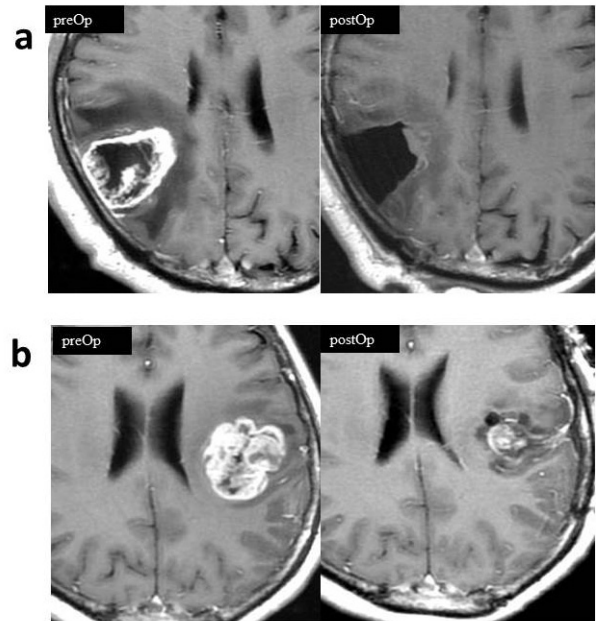


Figure 1. 術前 (左)、術後 (右) の MRI (T1 造影)。

a 「完全摘出」は術後造影病変が完全に消失しているもの。
b 「不完全摘出」は摘出腔内に結節もしくは壁に沿った造影病変が残るもの。

したプロトコールで、以降はテモゾロマイド (temozolomide; TMZ) が主流である。

MRI 検査は原則術後 48 時間以内に実施し (大多数は 24 時間以内)、摘出度の評価は T1 強調像にて行った。術前の造影病変が消失しているものを「完全摘出」(Fig.1a)、摘出腔壁に縁取り状、もしくは結節状に残存が見られるものを「不完全摘出」(Fig.1b)、それ以外で定位的な手技を含めて診断のみの目的で摘出されたものを「生検」と定義した。そのほかの予後調整因子は、診断時年齢、術前 Karnofsky Performance Scale (KPS) score、術前腫瘍最大径、腫瘍局在 (左右、eloquent area)、組織学的悪性度 (WHO 2007)、術後 TMZ とした。Eloquent area は運動野、言語野、基底核・内包、視床、一次視覚野とした。手術日からの無増悪生存期間 (progression free survival; PFS) と全生存期間 (over-all survival; OS) を算出し、PFS は MRI にて増悪が確認される時点までとした。

本研究では症例を大きく 2 群に分けて解析を行った。通常の GBM と AA を「high-grade astrocytoma」群、GBM に OC を含むものと AO, AOA を「high-grade oligodendroglial tumor」群とした。両群間の比較は各予後因子に関しては Student t-test と χ^2 test を用いた。

生存解析には Kaplan-Meter 法を用い、2 群間の差は log-rank 法にて検定した。OS および PFS の予後因子解析には Cox 比例ハザードモデルを用い、「high-grade astrocytoma」群と「high-grade

Table 1. 患者背景

	All (n=160)	Astrocytomas (n=93)	Oligodendroglial tumors (n=67)	P-value
Age (mean ± SD, y)	55 ± 14	59 ± 12	49 ± 14	< 0.001
Sex				
Male	87	46	41	0.10
Female	73	47	26	
Side of tumor				
Right	91	51	40	0.33
Left	69	42	27	
Preoperative KPS (mean ± SD, %)	79 ± 16	77 ± 17	83 ± 15	0.03
Tumor diameter (mean ± SD, cm)	4.6 ± 1.6	4.4 ± 1.5	4.7 ± 1.7	0.54
Eloquent area ^b				
yes	72	47	25	0.07
no	88	46	42	
WHO grading				
grade III	73	20	53	< 0.001
grade IV	87	73	14	
Postoperative TMZ				
yes	72	41	31	0.67
no	88	52	36	
Extent of resection				
biopsy	31	21	10	0.32
incomplete	69	36	33	
complete	60	36	24	
Median follow-up (months)	21.1	16.0	38.7	

Table 2. High-grade Astrocytoma 93 例における予後と臨床的因子に関する単変量解析

	Overall Survival			Progression Free Survival		
	Hazard Ratio	95% CI	P-value	Hazard Ratio	95% CI	P-value
Age ^a	1.009	0.99-1.03	0.43	1.013	0.99-1.03	0.18
Preoperative KPS < 80	1.177	0.72-1.93	0.52	1.260	0.80-1.99	0.32
Tumor diameter > 4cm	0.936	0.58-1.52	0.79	0.820	0.52-1.28	0.39
Eloquent area no	0.585	0.36-0.95	0.03	0.761	0.49-1.20	0.23
WHO grading grade III	0.674	0.37-1.22	0.19	0.657	0.38-1.31	0.13
Postoperative TMZ no	1.211	0.74-1.99	0.45	1.278	0.81-2.01	0.29

^aIncreasing variable

oligodendroglial tumor」群それぞれで行った。単変量解析にて P 値 0.2 以下となった因子を多変量解析に用いた。

【結果】

患者背景

今回の選択基準を満たした 160 名の患者背景を Table 1 にまとめた。男性 87 名、女性 73 名、平均年

齢 55 歳（年齢中央値 57 歳）。組織型は GBM 73 人（46%）、AA 20 名（13%）、GBM with OC 14 名（9%）、AOA 32 名（20%）、AO 21 名（14%）。14 名は MRI で造影されない病変で、組織学的内訳は GBM with OC 1 名、AA 3 名、AOA 7 名、AO 3 名であった。摘出度は完全摘出群、不完全摘出群、生検群がそれぞれ 60 名（38%）、69 名（43%）、31 名（19%）であった。後療法は、72 名が Stupp レジメンによる TMZ 化学療法⁽²⁵⁾、65 名（41%）は ACNU を主体とした

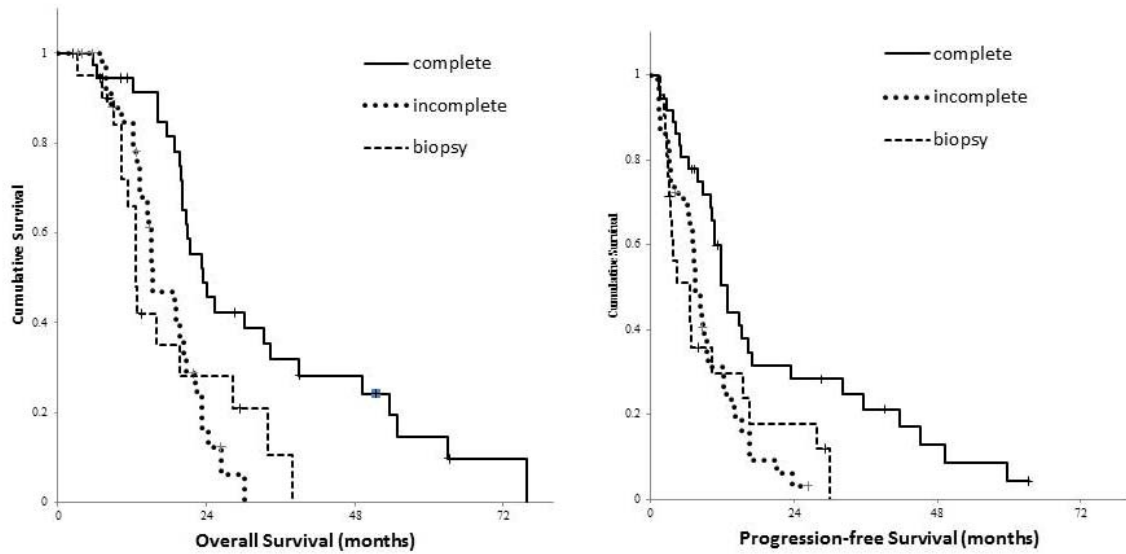


Figure 2. high-grade astrocytoma を対象とした、Kaplan-Meier 法による摘出度と全生存（overall survival）と無増悪生存（progression free survival）に関する解析。

Table 3. High-grade Astrocytoma 93 例における予後と摘出度に関する多変量解析

	Overall Survival			Progression Free Survival		
	Hazard ratio	95% CI	P-value	Hazard ratio	95% CI	P-value
Complete resection	0.356	0.19-0.66	< 0.001	0.405	0.23-0.71	0.002
Incomplete resection	1.0			1.0		
Biopsy	1.085	0.53-2.24	0.82	1.158	0.63-2.14	0.64

Adjusting for the effect of tumor location (involving eloquent area) and histological WHO grading

化学療法、7名（4%）が CDDP を主体とした化学療法を行っている。16名は後療法として化学療法を行わなかった。

Table 1 で示す通り、high-grade oligodendroglial tumor 群は high-grade astrocytoma 群と比較し診断時年齢が若く ($P<0.001$) 術前 KPS score も良好であった ($P=0.03$)。WHO grading では high-grade astrocytoma 群の悪性度が高い結果となった ($P<0.001$)。これは GBM with OC が少ないことに起因すると考えられた。性別、腫瘍の局在、術前最大腫瘍径、eloquent への浸潤、術後 TMZ 化学療法は 2 群間差が見られなかった。重要な点は high-grade oligodendroglial tumor 群と high-grade astrocytoma 群で摘出度に差がなかったことである ($P=0.32$)。

Follow-up 期間中央値は 21.1 ヶ月。88 名（55%）

がすでに死亡しており、全例が原疾患によるものであった。増悪は 115 名（72%）で見られ、うち 29 名が再手術されている。

High-grade Astrocytoma 群の解析

予後因子

93 名に摘出もしくは生検が実施された (GBM 73、AA 20)。Cox 比例ハザードモデルを用いた単変量解析の結果では (Table 2)、「eloquent area への浸潤」のみが予後不良因子として抽出された ($P=0.03$)。年齢、KPS score も予後との関連性は見られなかったことから、摘出度と予後に関する多変量解析からは除いた。さらに OS、PFS とも AA と GBM の 2 群に差が見られなかった ($P=0.19$)。

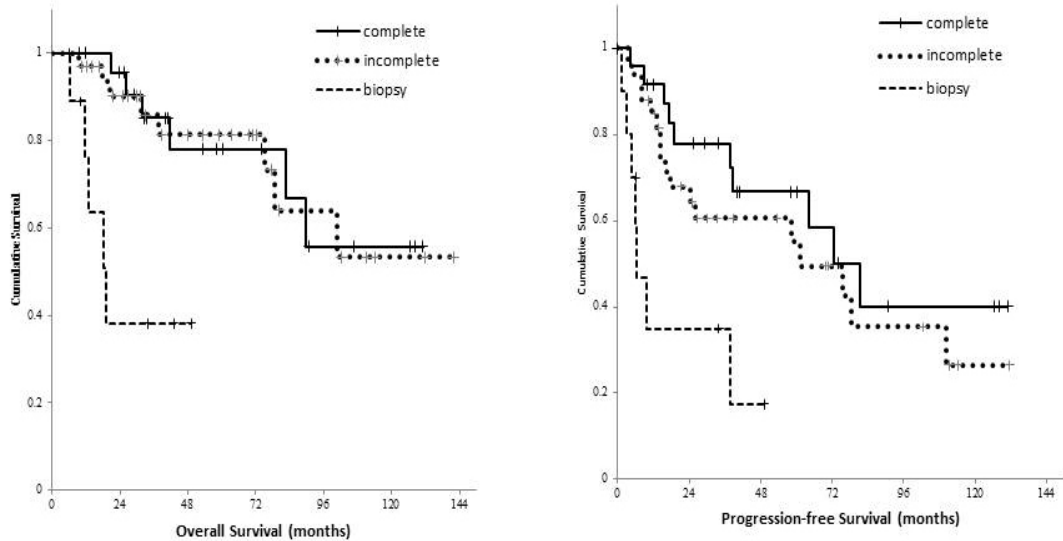


Figure 3. high-grade oligodendroglial tumor を対象とした、Kaplan-Meter 法による摘出度と全生存 (overall survival) と無増悪生存 (progression free survival) に関する解析。

Table 4. High-grade oligodendroglial tumor 67 例における予後と臨床的因子に関する単変量解析

	Overall Survival			Progression Free Survival		
	Hazard Ratio	95% CI	P-value	Hazard Ratio	95% CI	P-value
Age ^a	1.072	1.03-1.12	0.001	1.039	1.01-1.07	0.005
Preoperative KPS < 80	2.373	0.89-6.35	0.09	1.829	0.84-3.97	0.13
Tumor diameter > 4cm	2.640	0.88-7.97	0.08	1.985	0.95-4.12	0.07
Eloquent area no	0.781	0.31-1.99	0.60	0.669	0.34-1.33	0.25
WHO grading grade III	0.321	0.12-0.83	0.02	0.453	0.21-0.96	0.04
Postoperative TMZ no	0.640	0.22-1.84	0.41	0.811	0.38-1.75	0.59

Table 5. High-grade oligodendroglial tumor 67 例における予後と摘出度に関する多変量解析

	Overall Survival			Progression Free Survival		
	Hazard ratio	95% CI	P-value	Hazard ratio	95% CI	P-value
Complete resection	0.878	0.24-3.25	0.85	0.517	0.21-1.30	0.16
Incomplete resection	1.0			1.0		
Biopsy	9.35	2.52-34.8	< 0.001	3.718	1.45-9.54	0.006

Adjusting for the effect of patient age, preoperative KPS, tumor size and histological WHO grading

摘出度と予後

補正前の摘出度と OS、PFS の kaplan-Meier カーブを Fig.2 に示す。完全摘出群、不完全摘出群、生検群の OS 中央値はそれぞれ 23.4 ヶ月、15.3 ヶ月、12.6 ヶ月、PFS 中央値はそれぞれ 12.9 ヶ月、7.4 ヶ月、6.5 ヶ月であった。log-rank 検では OS、PFS とも摘出度による差が見られた ($P<0.01$)。

Cox 比例ハザードモデルによる摘出度と予後に関する多変量解析の結果は Table 3 のとおりである。腫瘍の局在、WHO grading による補正後、完全摘出が OS、PFS とも、不完全摘出、生検と比較し独立した予後改善因子であった (各々 $P<0.001$ 、 $P<0.002$)。不完全摘出は生検と比較して予後への寄与は見られなかった ($P=0.82$)。

High-grade Oligodendroglial Tumor 群の解析

予後因子

67 例が組織学的に high-grade oligodendroglial tumor と診断された。WHO grading では Grade III が 53 名 (AOA 32 名、AO 21 名)、Grade IV (GBM with OC) は 14 名であった。

Table 4 に示す通り、単変量解析では高年齢 ($P=0.01$) と WHO grade IV ($P=0.02$) が予後不良因子であった。high-grade astrocytoma と対照的であった結果は、WHO grading とが予後因子であったことである。一方、腫瘍局在は予後に影響がなかった。

摘出度と予後

摘出度と OS に関する Kaplan-Meier カーブは Fig.3 のとおりである。OS、PFS とも log-rank 検定で摘出度群間に差が見られた ($P<0.01$)。完全摘出群もしくは不完全摘出群に関しては、解析時点で多くの症例が生きており、OS の中央値は算出不可であった。一方生検群の OS 中央値は 19.3 ヶ月であった。完全摘出群、不完全摘出群、生検群の PFS 中央値はそれぞれ 81.4 ヶ月、61.3 ヶ月、6.5 ヶ月であった。

年齢、KPS score、腫瘍径、WHO grading で補正した多変量解析の結果、完全摘出は不完全摘出および生検と比較し予後に寄与していないことが明らかとなった ($P=0.85$)。PFS では完全摘出群が予後良好である傾向を示したが、統計学的な有意差は見られなかった ($P=0.16$)。一方で OS、PFS ともに生検群が完全摘出群および不完全摘出群と比較し有意に短かった (各々 $P<0.001$ 、 $P=0.006$)。 (Table 5)

【考察】

本研究では悪性 glioma を病理組織学的に high-grade oligodendroglial tumor と high-grade astrocytoma の 2 つの群に分類した。これまでの報告

では AOA や AO は AA と比較し明らかに予後が良いとされ⁽²⁶⁻³⁰⁾、また OC を含む GBM は通常の GBM よりも長期生存が期待されている⁽²⁰⁻²⁴⁾。我々のシリーズでは 87 例の GBM のうち 14 例 (16%) が OC を含んでいた。この比率は過去の報告とほぼ同じである^(20, 22)。その理由として Kraus らは後療法への反応性の違いを指摘している⁽²³⁾。He らは OC を含む GBM が分子生物学的にも異なるプロファイリングを持っていると指摘している⁽²⁰⁾。RTOG83-02 におけるサブ解析から Donahue らは OC を含む悪性 glioma の取り扱いについて十分考慮した研究デザインをすべきであると提案している⁽²⁶⁾。

今回の研究の主眼は手術摘出度も OC に影響を受けるのかどうかを検証することである。これまで GBM、AA では摘出度が予後良好因子であることが示されてきた^(1, 6, 7, 9-12, 31, 32)。今回の検討では、high-grade astrocytoma 群においては術後 MRI での造影病変の完全摘出が独立した予後良好因子であった。かつ、不完全摘出は生検と比較して生存延長に寄与していなかった。つまり high-grade astrocytoma 群に関する我々のデータは完全摘出が予後 (OS、PFS とも) にとって最も重要であるというこれまでの報告と同様のものではなかった。

今回の検討で興味深かったのは、AA と GBM の間に予後の差が見られなかったことである。今回 2 名の神経病理医が WHO2007 基準に従い組織を再検討しているが、high-grade oligodendroglial tumor に関しては OC の含有率にかかわらず診断している。AA に OC を含む患者群は予後が良い可能性があるため⁽²⁶⁾、我々のシリーズにおける AA はこれまでの報告と比較すると比較的予後不良となったものと思われる。しかし AA の患者数が少ないため更なる症例の蓄積による検討が必要である。さらに high-grade astrocytoma 群では、年齢、KPS が予後に関係しなかった。本研究では術後放射線治療を受けた患者のみを組み入れているため、高齢者や KPS の低いなどの理由で放射線を回避した症例は除外されている。これが年齢や KPS の予後への影響を小さくしてしまったかもしれない。

さて、high-grade astrocytoma に比べると high-grade oligodendroglial tumor に関して摘出率と予後との関係を検討した報告は少ない^(13, 15, 16, 33)。GBM with OC を含む high-grade oligodendroglial tumor 群では完全摘出と不完全摘出の間に予後の差を認めなかった。PFS でやや完全摘出群有利の傾向は見られたが統計学的には有意差を認めなかった。一方で生検群と比較して摘出群 (完全と不完全) が OS、PFS とも予後良好であった。第 III 相試験の AOA と AO に関するサブ解析では摘出術が独立した予後良好因子であったと報告している^(16, 33)。摘出度に関しては明確でな

いが、我々と同様の結果である。oligodendroglial tumor は化学療法反応性があると考えられ^(17, 19, 34)、これが摘出度にかかわらず予後良好である理由と推測されている。実際我々のシリーズでも残存腫瘍の認められた high-grade oligodendroglial tumor 38 例中 24 例 (63%) に後療法反応性が見られた。一方 high-grade astrocytoma 群では 51 例中、反応性が確認できたのは 12 例 (24%) であった。High-grade oligodendroglial tumor に対する外科切除の役割は明確ではないが、今回の検討から、high-grade astrocytoma と異なり、たとえば eloquent area を含む病変で完全摘出が困難な場合でも maximum safe resection を試みることで予後の延長に寄与するのではないかと考えられた。

【結語】

今回の我々は過去 10 年の悪性 glioma の治療成績を振り返り組織型による手術の役割について考えてみた。今回の検討では、摘出度が予後に与える影響は high-grade astrocytoma と high-grade oligodendroglial tumor では異なることが示唆された。当然、retrospective な検討であること、数にばらつきがあることなど複数の予後因子を解析するには制限があり今後更なる検証が必要である。しかし今回の結果は術前に組織型が予測できるようになれば、手術戦略の立案に貢献出来得るものと考えられる。

【文献】

1. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol.* 2006 May;7(5):392-401.
2. Stummer W, Reulen HJ, Meinel T, Pichlmeier U, Schumacher W, Tonn JC, et al. Extent of resection and survival in glioblastoma multiforme: identification of and adjustment for bias. *Neurosurgery.* 2008 Mar;62(3):564-76; discussion -76.
3. Yoshikawa K, Kajiwara K, Morioka J, Fujii M, Tanaka N, Fujisawa H, et al. Improvement of functional outcome after radical surgery in glioblastoma patients: the efficacy of a navigation-guided fence-post procedure and neurophysiological monitoring. *J Neurooncol.* 2006 May;78(1):91-7.
4. Kombos T, Picht T, Derdilopoulos A, Suess O. Impact of intraoperative neurophysiological monitoring on surgery of high-grade gliomas. *J Clin Neurophysiol.* 2009 Dec;26(6):422-5.
5. Muragaki Y, Iseki H, Maruyama T, Kawamata T, Yamane F, Nakamura R, et al. Usefulness of intraoperative magnetic resonance imaging for glioma surgery. *Acta Neurochir Suppl.* 2006;98:67-75.
6. Keles GE, Anderson B, Berger MS. The effect of extent of resection on time to tumor progression and survival in patients with glioblastoma multiforme of the cerebral hemisphere. *Surg Neurol.* 1999 Oct;52(4):371-9.
7. Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR, Gokaslan ZL, Shi W, DeMonte F, et al. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival. *J Neurosurg.* 2001 Aug;95(2):190-8.
8. Lamborn KR, Chang SM, Prados MD. Prognostic factors for survival of patients with glioblastoma: recursive partitioning analysis. *Neuro Oncol.* 2004 Jul;6(3):227-35.
9. McGirt MJ, Chaichana KL, Gathinji M, Attenello FJ, Than K, Olivi A, et al. Independent association of extent of resection with survival in patients with malignant brain astrocytoma. *J Neurosurg.* 2009 Jan;110(1):156-62.
10. Nitta T, Sato K. Prognostic implications of the extent of surgical resection in patients with intracranial malignant gliomas. *Cancer.* 1995 Jun 1;75(11):2727-31.
11. Stark AM, Nabavi A, Mehdorn HM, Blomer U. Glioblastoma multiforme-report of 267 cases treated at a single institution. *Surg Neurol.* 2005 Feb;63(2):162-9; discussion 9.
12. Ushio Y, Kochi M, Hamada J, Kai Y, Nakamura H. Effect of surgical removal on survival and quality of life in patients with supratentorial glioblastoma. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2005 Sep;45(9):454-60; discussion 60-1.
13. Jeremic B, Milicic B, Grujicic D, Samardzic M, Antunovic V, Dagovic A, et al. Combined treatment modality for anaplastic oligodendroglioma and oligoastrocytoma: a 10-year update of a phase II study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Jun 1;59(2):509-14.
14. Kristof RA, Neuloh G, Hans V, Deckert M, Urbach H, Schlegel U, et al. Combined surgery, radiation, and PCV chemotherapy for astrocytomas compared to oligodendrogliomas and oligoastrocytomas WHO grade III. *J Neurooncol.* 2002 Sep;59(3):231-7.
15. Puduvalli VK, Hashmi M, McAllister LD, Levin

- VA, Hess KR, Prados M, et al. Anaplastic oligodendrogliomas: prognostic factors for tumor recurrence and survival. *Oncology*. 2003;65(3):259-66.
16. van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, Sanson M, Taphoorn MJ, Bernsen HJ, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J Clin Oncol*. 2006 Jun 20;24(18):2715-22.
17. Cairncross G, Macdonald D, Ludwin S, Lee D, Cascino T, Buckner J, et al. Chemotherapy for anaplastic oligodendroglioma. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol*. 1994 Oct;12(10):2013-21.
18. Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, Lisle DK, Finkelstein DM, Hammond RR, et al. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Oct 7;90(19):1473-9.
19. Smith JS, Perry A, Borell TJ, Lee HK, O'Fallon J, Hosek SM, et al. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol*. 2000 Feb;18(3):636-45.
20. He J, Mokhtari K, Sanson M, Marie Y, Kujas M, Hugué S, et al. Glioblastomas with an oligodendroglial component: a pathological and molecular study. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001 Sep;60(9):863-71.
21. Hilton DA, Penney M, Pobereskin L, Sanders H, Love S. Histological indicators of prognosis in glioblastomas: retinoblastoma protein expression and oligodendroglial differentiation indicate improved survival. *Histopathology*. 2004 Jun;44(6):555-60.
22. Homma T, Fukushima T, Vaccarella S, Yonekawa Y, Di Patre PL, Franceschi S, et al. Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2006 Sep;65(9):846-54.
23. Kraus JA, Lamszus K, Glesmann N, Beck M, Wolter M, Sabel M, et al. Molecular genetic alterations in glioblastomas with oligodendroglial component. *Acta Neuropathol*. 2001 Apr;101(4):311-20.
24. Pope WB, Sayre J, Perlina A, Villablanca JP, Mischel PS, Cloughesy TF. MR imaging correlates of survival in patients with high-grade gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005 Nov-Dec;26(10):2466-74.
25. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):987-96.
26. Donahue B, Scott CB, Nelson JS, Rotman M, Murray KJ, Nelson DF, et al. Influence of an oligodendroglial component on the survival of patients with anaplastic astrocytomas: a report of Radiation Therapy Oncology Group 83-02. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1997 Jul 15;38(5):911-4.
27. Ino Y, Zlatescu MC, Sasaki H, Macdonald DR, Stemmer-Rachamimov AO, Jhung S, et al. Long survival and therapeutic responses in patients with histologically disparate high-grade gliomas demonstrating chromosome 1p loss. *J Neurosurg*. 2000 Jun;92(6):983-90.
28. Miller CR, Dunham CP, Scheithauer BW, Perry A. Significance of necrosis in grading of oligodendroglial neoplasms: a clinicopathologic and genetic study of newly diagnosed high-grade gliomas. *J Clin Oncol*. 2006 Dec 1;24(34):5419-26.
29. Park CK, Lee SH, Han JH, Kim CY, Kim DW, Paek SH, et al. Recursive partitioning analysis of prognostic factors in WHO grade III glioma patients treated with radiotherapy or radiotherapy plus chemotherapy. *BMC Cancer*. 2009;9:450.
30. Tortosa A, Vinolas N, Villa S, Verger E, Gil JM, Brell M, et al. Prognostic implication of clinical, radiologic, and pathologic features in patients with anaplastic gliomas. *Cancer*. 2003 Feb 15;97(4):1063-71.
31. Keles GE, Chang EF, Lamborn KR, Tihan T, Chang CJ, Chang SM, et al. Volumetric extent of resection and residual contrast enhancement on initial surgery as predictors of outcome in adult patients with hemispheric anaplastic astrocytoma. *J Neurosurg*. 2006 Jul;105(1):34-40.
32. Kowalczyk A, Macdonald RL, Amidei C, Dohrmann G, 3rd, Erickson RK, Hekmatpanah J, et al. Quantitative imaging study of extent of surgical resection and prognosis of malignant astrocytomas. *Neurosurgery*. 1997 Nov;41(5):1028-36; discussion 36-8.

33. Cairncross G, Berkey B, Shaw E, Jenkins R, Scheithauer B, Brachman D, et al. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol.* 2006 Jun 20;24(18):2707-14.
34. Cairncross JG, Macdonald DR. Successful chemotherapy for recurrent malignant oligodendroglioma. *Ann Neurol.* 1988 Apr;23(4):360-4.

再発膠芽腫における再摘出術の役割と有用性

Prognostic factors of reoperation for recurrent glioblastoma

杏林大学医学部脳神経外科

横矢重臣、小林啓一、阿部泰明、野口明男、塩川芳昭、永根基雄

Department of Neurosurgery, Kyorin university faculty of medicine, Tokyo, Japan

Shigeomi Yokoya, Keiichi Kobayashi, Yasuaki Abe, Akio Noguchi, Yoshiaki Shiokawa, Motoo Nagane.

Abstract:

Object. Despite initial treatment with surgical resection, radiotherapy, and chemotherapy, glioblastoma (GBM) recurs eventually in most cases. The surgical management of recurrent GBM is yet controversial. The authors aim to determine preoperative factors which would associate with favorable outcome after re-resection for recurrent GBM.

Patients and Methods. Medical records and neuroradiological images were reviewed for patients who underwent second operation for recurrent GBM after receiving initial treatment, the standard of care, with radiotherapy with concurrent and adjuvant temozolomide in the Kyorin University hospital from January 1, 2007, through December 31, 2012. In 10 eligible patients, their clinical demographics including age, Karnofsky performance status (KPS), tumor location, extent of resection (EOR), time between the initial and second operations, and methylation status of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene were analyzed and were correlated with patients' survival using logrank test.

Results. Median age was 66 years old with median KPS score of 80 at the initial operation. The median progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) were 6.8 and 16.8 months from the initial operation, and were 3.1 and 9.1 months after the re-resection, respectively. There were no statistically significant differences in PFS and OS from initial resection by any clinical factors, whereas OS after the reoperation was significantly longer in patients with higher KPS (≥ 90) at recurrence ($p=0.022$), but not in those with gross total resection at reoperation ($p=0.512$).

Conclusion. KPS score at recurrence is an important predictor of OS after reoperation. Patients with recurrent GBM in good performance status may be a potential candidate for surgical treatment.

Key words: recurrent glioblastoma, reoperation, prognostic factor.

【要旨】

(はじめに)初回手術にての最大摘出とそれに続く放射線治療、化学療法によっても膠芽腫の再発は避けられないが、再発膠芽腫に対する有効な標準治療は現在でも確立していない。再手術は常に治療の選択肢となりうるが未だに論争が多い。当院における再発膠芽腫に対する再手術の効果について検証した。

(対象・方法) 2007年1月から2012年12月までの期間に当科にて Stupp レジメンでの治療後に再発し、再手術を受けた膠芽腫 10 例を対象とした。術前・術後の臨床因子、及び O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) 遺伝子プロモーター領域のメチル化の有無などについて検討を加えた。

(結果) 初発時平均年齢は 66 (43-76) 歳、女性 4 名、

男性 6 名、診断時 Karnofsky performance status (KPS) 中央値 80 (70-90) %、初回手術の摘出度中央値 99.9 (22.5-100) %、MGMT メチル化は 4 例に認められた。初回手術から再発までの期間(無増悪生存期間、PFS)は中央値 6.8 (1.2-40.6) か月、初回手術から再手術までの期間の中央値は 8.9 (2.0-41.7) か月、全生存期間 (OS) 中央値は 16.8 (11.1-53.8) か月であった。再手術時 KPS 中央値は 90 (40-90)、再手術から再々発までの期間は中央値 3.1 (0.72-6.9) か月、再手術から死亡までの期間は中央値 9.1 (5.3-17.4) か月であった。再手術群内で PFS、OS について臨床因子と MGMT のメチル化の有無に関して統計学的に検討したところ再手術後の OS において再手術前の KPS 90 以上が統計学的に有意差をもって再手術

Table 1.

Characteristics		N	中央値 (範囲)
年齢 (初発時)			66 yo (43-76)
年齢 (再手術時)			67 yo (43-77)
性別	男	6	
	女	4	
KPS (初発時)			80% (70-90)
KPS (再手術時)			90% (40-90)
初回手術摘出率			99.9% (22.5-100)
MGMT メチル化	+	4	再手術時 3
	-	5	再手術時 6
	不明	1	再手術時 1
初期治療			
RT		10	
Concomitant TMZ		10	1: +IFNb, 1: +Bev
Adjuvant TMZ	+	7	
	-	3	
再発回数		1	10
初回手術から再手術までの期間			8.9 m (2.0-41.7)

Table 2.

	mPFS (mos)	95%CI	P Value
初発年齢			0.115
≥65歳	9.9	8.4-11.3	
<65歳	5.6	4.0-7.1	
性別			0.523
男	4.8	0-11.3	
女	9.7	4.5-15.2	
KPS			0.956
≥90	9.2	0.9-17.5	
<90	5.6	3.2-8.0	
部位			0.143
前頭葉	9.9	.	
その他	5.6	2.8-8.3	
上衣下浸潤			0.28
あり	1.4	0-5.7	
なし	9.8	4.9-14.9	
摘出率			0.917
≥98%	6.8	3.6-10.0	
<98%	9.9	1.8-17.9	

群内での予後良好因子として抽出された (P=0.022)。また、全摘出 (Gross total resection, GTR)は有意水準に満たなかったが予後を延長させる傾向があった。(考察) 再発時の KPS 良好例、再手術にて GTR が見込める症例では、積極的再手術も考慮すべきであると考えられた。

【はじめに】

初回手術にて安全な範囲での最大摘出とそれに続く放射線治療、化学療法によっても膠芽腫に再発は避けられない。しかし、再発膠芽腫に対する標準治療は、現在は bevacizumab の他、十分には確立していないのが現状である。その中で、再手術は常に治療の選択肢として考慮されるが、その適応と有効性については論争が多い。今回、当院にて初期

Table 3.

	mPFS (mos)	95%CI	P Value
初発年齢			0.055
≥65歳	27.9	24.9-30.9	
<65歳	15.2	14.6-15.8	
性別			0.648
男	15.4	15.0-15.8	
女	18.6	5.7-31.5	
KPS			0.176
≥90	27.9	25.6-30.1	
<90	15.1	14.4-16.0	
部位			0.18
前頭葉	27.8	.	
その他	15.3	14.9-15.9	
上衣下浸潤			0.118
あり	14.8	9.2-20.3	
なし	18.6	3.6-33.6	
摘出率			0.643
≥98%	26.5	13.4-39.6	
<98%	18.6	13.1-24.1	
Adj. TMZ			0.629
あり	18.6	10.3-26.9	
なし	15.2	14.6-15.8	
Second CT			0.617
あり	18.6	10.5-26.7	
なし	.	.	
Bev.			0.599
あり	26.4	8.4-44.6	
なし	18.6	14.3-22.9	
初発MGMT			0.321
M	22.5		
U	15.1		
再発MGMT			0.473
M	27.9	6.9-48.9	
U	18.6	11.9-25.3	

temozolomide (TMZ) 標準治療後再発し、再手術を施行した再発膠芽腫について治療結果を検討した。

【対象・方法】

2007年1月から2012年12月の間に Stupp レジメン (TMZ 併用放射線照射とその後の維持 TMZ 単独療法) での治療後に再発し、再手術を施行した膠芽腫 10 例を対象とした。臨床因子 [年齢、性別、腫瘍局在、術前 Karnofsky performance status (KPS)、初回手術摘出度、初回と再手術時までの手術間隔、再手術時 KPS、再手術時の摘出度 (extent of resection, EOR)] 及び O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) 遺伝子プロモーター領域のメチル化の有無等につき後方視的に予後との関連を検討した。

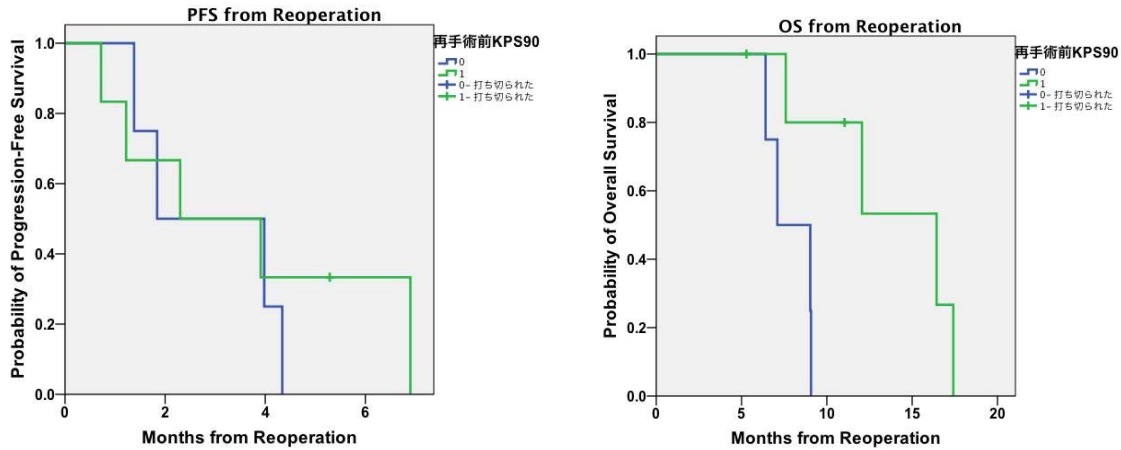


Figure 1.

Kaplan-Meier curves showing progression-free survival (PFS) (left panel) and overall survival (OS) (right panel) from reoperation by Karnofsky performance status (KPS) ≥ 90 or ≤ 80 . Differences between the groups were analyzed using the log-rank test. Patients with higher KPS had a significantly longer OS, but not PFS, than those with lower KPS.

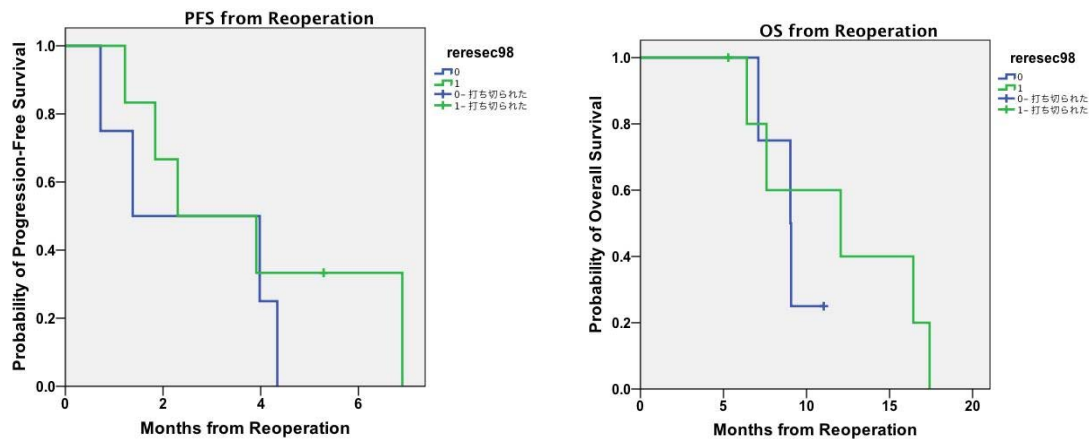


Figure 2.

Kaplan-Meier curves showing progression-free survival (PFS) (left panel) and overall survival (OS) (right panel) from reoperation by extent of resection (EOR) $\geq 98\%$ or $\leq 97\%$. Differences between the groups were analyzed using the log-rank test. There were no statistically significant differences between the groups.

【結果】

背景因子

年齢、性別、腫瘍局在、術前 KPS、初回手術摘出度、初回と再手術時までの手術間隔、再手術時 KPS、再手術時の摘出度、MGMT 遺伝子メチル化の有無、及び、初期治療の内容を Table 1 に示す。全例で Stupp レジメンにて初期治療を行った。1 例は interferon- β を、もう一例は bevacizumab を併用した初期治療を行った。10 例のうち、7 例は TMZ 維持療法を施行 (中央値 : 6 cycles、範囲 : 3-37 cycles) を施行した。再発後の second line の化学療法は、low-dose ICE 療法 2 例、TMZ 単独療法が 3 例、ACNU が 1 例、carboplatin – etoposide 併用療法 1 例で全 8 例に施行したが、腫瘍増殖制御困難と判断し再手術に踏み切

った。再手術を行った 10 例の無増悪生存期間中央値 (mPFS) は 6.8 ヶ月、全生存期間中央値 (mOS) は 18.6 ヶ月であった。

再手術時 KPS 中央値は 90 (40-90)、再手術から再々発までの期間は中央値 3.1 (0.72-6.9) か月、再手術から死亡までの期間は中央値 9.1 (5.3-17.4) か月であった。

初回手術後の PFS・OS

10 例の再手術を施行した症例で、年齢、性別などの各因子と初回手術後の PFS 及び OS との関連性について検討を行った。いずれにおいても年齢、性別、腫瘍局在、術前 KPS、初回手術摘出度、初回と再手術時までの手術間隔、再手術時 KPS、再手術時の摘

Table 4.

	mPFS (mos)	95%CI	P Value
再手術年齢			0.132
≥65歳	4	3.8-4.1	
<65歳	1.8	0.8-2.8	
再発時KPS			0.633
≥90	2.3	0-5.6	
<90	1.8	0-4.4	
再発時摘出率			0.443
≥98%	2.3	0-4.8	
<98%	1.3	0-4.6	
再発時MGMT			0.387
M	4.3	0-9.3	
U	2.3	0-4.8	
Second line化学療法			0.149
あり	1.8	0.6-3.1	
なし	4.3	.	
初発時MGMT			0.393
M	1.2		
U	3.1		

出度などの各臨床因子および MGMT 遺伝子メチル化の有無は予後の有意な因子として抽出されなかった (Table 2, 3)。

再手術後の PFS、OS

同様の因子に関して、再手術後の PFS 及び OS との関連性について単変量解析を施行した。PFS においては有意な因子はなかった。OS において再手術前の KPS 90 以上が統計学的に有意差をもって再手術群内での予後良好因子として抽出された。再手術時の EOR を含め、その他の因子はいずれも有意水準を満たさなかった (Table 4, 5) (Fig.1, 2)。

【考察】

再手術の主たる目的は再発病巣の病理組織・悪性度診断と mass effect の解除による症状の軽快にある。また低酸素状態にあり、治療抵抗性が高い腫瘍成分を除去することによって、その後の補助療法の治療効果を高めることなどがある。ただし、その適応の選択は難しく、再発後の余命が限られる神経膠芽腫では quality of life (QOL) の維持が優先されるべきであり、治療による医源性の中枢神経障害は避けるべきであるという観点から、再手術に至る症例は限られる。具体的には、QOL を低下させないで腫瘍本体の造影病巣が全摘出 (gross total resection, GTR) できる場合が適応となり、2007 年以降、当院では 10 例と少ない症例数に留まった。

過去の文献では、PFS と OS は、再発時の外科的介入の有無にて差がないとの報告がある¹⁾。今回の

Table 5.

	mOS (mos)	95%CI	P Value
再手術年齢			0.061
≥65歳	12.1	4.9-19.2	
<65歳	7.6	6.5-8.6	
KPS			0.022
≥90	16.4	9.1-23.8	
<90	7.1	4.5-9.7	
上衣下浸潤			0.265
あり	9	7.3-10.8	
なし	16.4	0.4-32.5	
再手術摘出率			0.512
≥98%	12.1	2.5-21.7	
<98%	9	7.1-10.9	
再発時MGMT			0.652
M	7.1	.	
U	9.1	.	

検討対象は再手術例に限っており、再手術非施行例の解析は施行していないため、再手術自体の予後への impact は検討できていない。

再発膠芽腫に対する再手術後の予後因子として、術前 KPS、摘出度、年齢、腫瘍体積、部位、初回と再発までの手術間隔、が有意な因子であるとの報告がある^{2, 3)}。今回の検討でも、術前 KPS は統計学的有意差をもって予後良好因子として抽出された (logrank 検定)。しかし、摘出度、年齢、部位に関しては有意ではなかった。また、初回の手術摘出度に関わらず、再手術時の GTR は OS を最大限延長するとの報告がある⁴⁾。今回は、EOR で軽度の延長が認められるも、統計学的には有意差はなかった。

対象の sample size が小さい (n=10) ことも影響していると考えられ、今後の症例の蓄積・検討が必要であると思われた。

【結語】

当院における、2007 年以降の再発膠芽腫で、Stupp レジメンでの初期治療後の再発時に再摘出を施行した 10 例の予後因子を解析した。再手術前の KPS のみ、有意な因子として抽出され、摘出度 (GTR) は有意水準に満たなかった。今後、再手術非施行の再発膠芽腫例と比較することで、再手術の OS 改善への意義を検討することが必要である。今回の検討では、再発時の KPS 良好例、再手術にて GTR が見込める症例では、積極的再手術も考慮されうると思われた。

【文献】

- 1) Clarke JL, Michele ME, Alfred Yung WK, et al. Is surgery at progression a prognostic marker for improved 6-month progression-free survival or overall survival for patients with recurrent glioblastoma? *Neuro-Oncology* 13(10):1118-1124,2011.
- 2) John KP, Tiffany H, Leopold A et al. Scale to Predict Survival After Surgery for Recurrent Glioblastoma Multiforme. *J Clin Oncol.*28(24):3838-3843,2010
- 3) Giuseppe MVB, Michael DJ, Andrew RB. 'Recurrent' glioblastoma multiforme, when should we reoperate? *British Journal of Neurosurgery* 22(3):452-455,2008
- 4) Orion B, Seunggu JH, Soonmee C, et al. Impact of extent of resection for recurrent glioblastoma on overall survival. *J Neurosurg* 117:1032-1038,2012.

The Cancer Genome Atlas (TCGA) データの Glioma stem cell 研究への応用: 新規分子標的治療の開発を目指して

Molecular and lineage analysis of glioblastoma stem cells identifies clinically relevant models of glioblastoma

東邦大学医療センター大橋病院 脳神経外科¹⁾

MD Anderson Cancer Center, Department of Neuro-Oncology²⁾

MD Anderson Cancer Center, Department of Bioinformatics and Computational Biology³⁾

○齋藤紀彦^{1,2)}、青木和哉¹⁾、平井 希¹⁾、石井 匡¹⁾、平元 侑¹⁾、佐藤健一郎¹⁾、
中山晴雄¹⁾、原科純一¹⁾、伊豆蔵英明¹⁾、伊藤圭介¹⁾、櫻井貴敏¹⁾、Dimpy Koul²⁾、
Roel G.W. Verhaak³⁾、Jun Fu²⁾、Jun Yao²⁾、W. K. Alfred Yung²⁾、岩渕聡¹⁾

Department of Neurosurgery, Toho University Ohashi Medical Center, Tokyo, Japan¹⁾

Department of Neuro-Oncology, MD Anderson Cancer Center, Houston, USA²⁾

Department of Bioinformatics and Computational Biology, MD Anderson Cancer Center, Houston, USA³⁾

Norihiko Saito^{1,2)}、Kazuya Aoki¹⁾、Nozomi Hirai¹⁾、Masashi Ishii¹⁾、Yu Hiramoto¹⁾、Kenichiro Sato¹⁾、
Haruo Nakayama¹⁾、Junichi Harashina¹⁾、Hideaki Izukura¹⁾、Keisuke Ito¹⁾、Takatoshi Sakurai¹⁾、
Dimpy Koul²⁾、Roel G.W. Verhaak³⁾、Jun Fu²⁾、Jun Yao²⁾、W. K. Alfred Yung²⁾、Satoshi Iwabuchi¹⁾

Abstract: The Cancer Genome Atlas (TCGA) project described a robust gene expression-based molecular classification of GBM. However, the functional and biological significance of the molecular subclasses are being determined. In this study, we hypothesize that Glioma Stem Cells (GSCs) isolated from individual patient tumor samples will recapitulate the molecular characteristics of tumor samples and provide a relevant model for functional analysis of the molecular subclasses. Thus we conducted a comprehensive analysis of 25 GSC lines with expression array, lineage markers staining and xenograft model. Analysis of the expression data classified the GSC lines into four subtypes (Proneural 1, Proneural 2, Classical and Mesenchymal,) closely similar to the TCGA subclasses with a distinct profile for each subtype (c-Myc, Cyclin D2 for Classical; Olig2, NKX2-2, Notch-1, Notch-3 for Proneural 2; BMP4, DCX, p16INK4a, ID2 for Proneural 1; CD44, CAV1, TGFBR2 for Mesenchymal). Further analysis showed that GSC subtypes exhibit divergent patterns of signaling pathway activation. The major pathways activated in 4 subtypes were Notch pathway in Proneural 2, Wnt in Proneural 2 and Classical, while TGF- β in Mesenchymal. In vitro treatment with SB 431542, a TGF- β R inhibitor, showed that Mesenchymal subtype is more sensitive than other subtypes. More importantly, lineage analysis of GSCs subtypes show that Proneural and Classical GSCs differentially express lineage markers for neural stem/progenitor cells and were responsive to differentiating agent retinoic acid. In addition, GSC subtypes exhibit distinct biological behaviors in self-renewal capacity, proliferation, invasiveness, angiogenic potential, response to growth factor stimulus, and differentiation in vitro and in vivo with Classical subtype being more proliferative and Mesenchymal subtype being more angiogenic and invasive. In conclusion, our comprehensive analysis showed that GSCs reflect TCGA tumor subclass and these subtypes showed distinct regulatory pathway activation, lineage profile and biological behaviors. Thus GSC is biologically and molecularly a more relevant model system for preclinical studies of therapeutic intervention and to expand our molecular understanding of human GBM.

Key words: TCGA, Glioblastoma, Glioma stem cell.

【要旨】

The Cancer Genome Atlas (TCGA) プロジェクトにより膠芽腫の遺伝子発現に基づく分子分類が行われた。しかし、各サブクラスの機能的および生物学的意義は依然として明らかにされていない。本研究では、臨床検体から培養した 25 株のグリオーマ幹細胞を用いて、マイクロアレイによる発現解析や免疫染色および動物モデルによる総合的な解析を行った。まずグリオーマ幹細胞のプロファイル解析を行ったところ、TCGA サブタイプに極めて類似した 4 つのサブタイプ (Proneural 1:PN1, Proneural 2:PN2, Classical:CL, Mesenchymal:Mes) に分類され、複数の遺伝子発現によって特徴づけられた。また、各サブタイプはそれぞれ特徴的なシグナル伝達経路の活性化を示すことがわかった。各サブタイプで活性化されている主要な経路としては PN2 における Notch 経路、CL と PN2 における Wnt 経路、Mes における TGF- β があげられる。さらに PN2 に Notch 阻害剤を投与すると、他のサブタイプの投与群と比べ Notch 阻害剤に対する感受性が高く、同様に Mes に TGF β 阻害薬を投与すると他のサブタイプの投与群より感受性が高かった。次にグリオーマ幹細胞の生物学的性質の検索を行ったところ、自己複製能力、増殖能、浸潤性、血管新生能、成長因子刺激に対する反応、細胞分化などにおいて各サブタイプで異なった生物学的性質を示した。我々の包括的解析によってグリオーマ幹細胞が TCGA サブタイプに極めて類似したサブタイプに分類可能であり、これらのサブタイプが異なるシグナル伝達経路の活性化、生物学的性質、細胞分化を示すことが明らかになった。TCGA データはグリオーマ幹細胞研究や新規治療開発に応用可能であり、さらなる解析が期待される。

【はじめに】

The Cancer Genome Atlas (TCGA) による神経膠芽腫の網羅的遺伝子解析により、遺伝子異常に基づいた新たな分類が提唱されている。そこで明らかになった特徴的な遺伝子異常は新規分子標的治療のターゲットとして有力な候補であり、さらなる研究が望まれている。近年、グリオーマ幹細胞の存在が提唱され、多くの研究が行われている。今回我々は 25 株のグリオーマ幹細胞を用いて、その網羅的解析を行い TCGA データと比較検討により、その分子生物学的特徴を明らかにすることを試みた。またそのデータを元にそれぞれの生物学的特性を明らかにした。これらの結果より TCGA データはグリオーマ幹細胞研究にも応用可能であり、グリオーマ幹細胞は膠芽腫治療の新たなターゲットに成り得るものと考えられる。

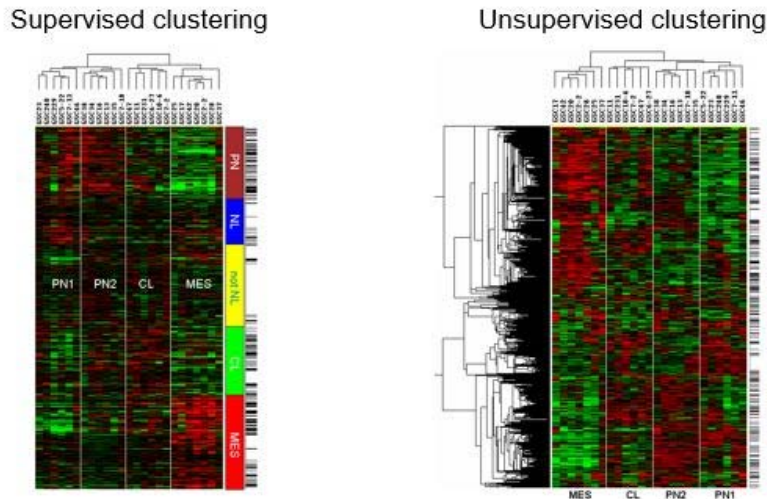
【対象・方法】

腫瘍細胞：MD Anderson Cancer Center で GBM と診断された手術摘出組織から分離培養を行い樹立したグリオーマ幹細胞 (GSC) 25 株を使用した。細胞は bFGF と EGF を添加した無血清培地で培養した。
遺伝子発現解析：Human Genome U133A 2.0 Array を使用して GSC の発現解析を行った。533 例の TCGA データは TCGA data portal よりダウンロードした。
未分化・分化マーカーの発現の発現解析：8-well chamber にグリオーマ幹細胞を播種し、7 日間培養した。Paraformaldehyde にて細胞を固定後、13 のマーカー (GLAST, Nestin, Olig2, Sox2, PDGFRa, S100b, GFAP, TuJ1, PSA-NCAM, O4, NG2, YKL-40, A2B5) 特異的な抗体を用いて細胞蛍光免疫染色を行い、共焦点顕微鏡下で発現陽性細胞の割合を計測した。
Neurosphere assay：96-well plate に 100 cell ずつ播種し、7 日間培養した。顕微鏡下にて形成された sphere 数を計測した (primary neurosphere formation assay)。その後 sphere を回収し、再度 96-well plate に 50 cell ずつ播種し、7 日間培養した。顕微鏡下にて形成された sphere 数を計測した (secondary neurosphere formation assay)。
頭蓋内細胞移植モデル：Nude (nu/nu) マウス (6~8 week-old) の右大脳半球に定位的に移植後、その生存を観察した。免疫染色にて各種マーカーの発現解析を行った。

【結果】**遺伝子発現解析に基づくサブタイプ分類**

グリオーマ幹細胞のサブタイプ分類を行うため、25 株のグリオーマ幹細胞を用いて 2 つの異なる手法を用いて遺伝子発現解析を行った。まず Verhaak による GBM の 4 つのサブタイプ分類に用いられた 1461 の probe set を使用して supervised clustering を行ったところ、2 つの大きな cluster に分類された。さらにその内一つの cluster は“proneural”遺伝子の発現上昇が認められる 2 つの sub-cluster に分類され、もう一つはそれぞれ“classical”遺伝子と“mesenchymal”遺伝子の発現上昇が認められる 2 つの sub-cluster に分類された。また、proneural sub-cluster のひとつ“Proneural 1”は“neural”遺伝子の発現上昇を認めるものの、“proneural”遺伝子の発現上昇もあり“neural”cluster までの確証は得られなかった。

次に上位 1600 の probe set を使用して unsupervised clustering を行ったところ、supervised clustering と同じ 4 つの sub-cluster に分類された。この方法では“mesenchymal”サブタイプではより“mesenchymal”遺伝子の高発現が認められ、また“Proneural 2” sub-cluster では“proneural”遺伝子と“classical”遺伝子の両方が高発現しており、“proneural”サブタイプと



- Both supervised clustering or unsupervised clustering classified 25 GSC cell lines into 4 subtypes: **Mesenchymal (MES), Proneural 1 (PN1), Proneural 2 (PN2) and Classical (CL).**

Figure 1.

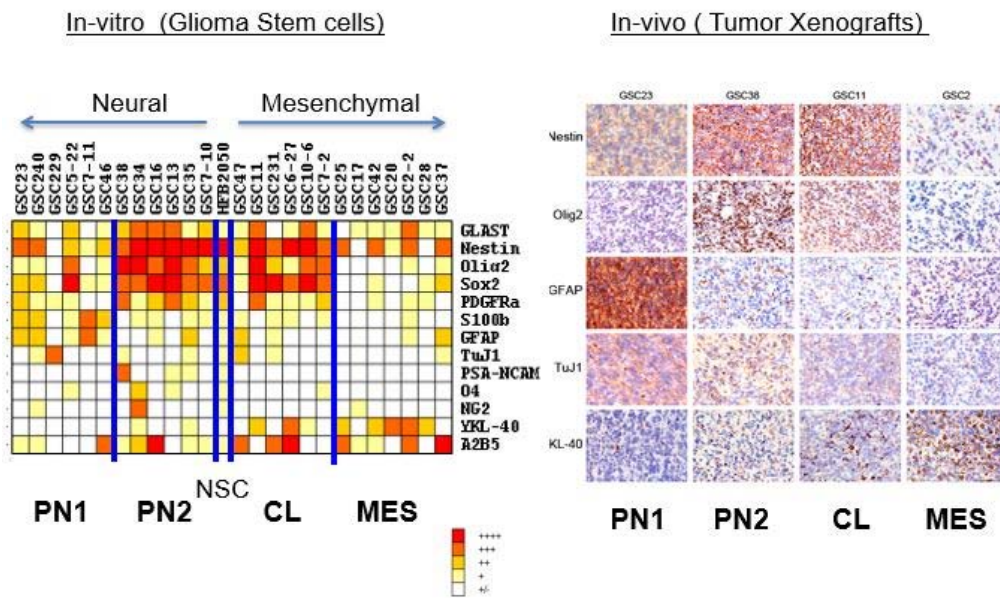


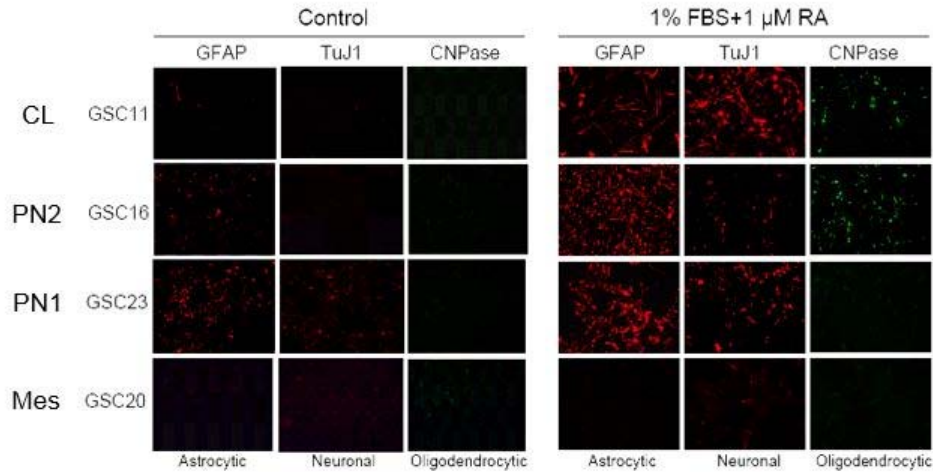
Figure 2.

“classical”サブタイプの中に位置するものと推測された。各サブタイプにおける代表的な遺伝子として、Proneural 1ではBMP4, DCX, p16INK4a, ID2、Proneural 2ではOlig2, NKX2-2, Notch-1, Notch-3、Classicalではc-Myc, Cyclin D2、MesenchymalではCD44, CAV1, TGFBR2が挙げられる (Fig.1)。

グリオーマ幹細胞は異なる幹細胞マーカーの発現を示す

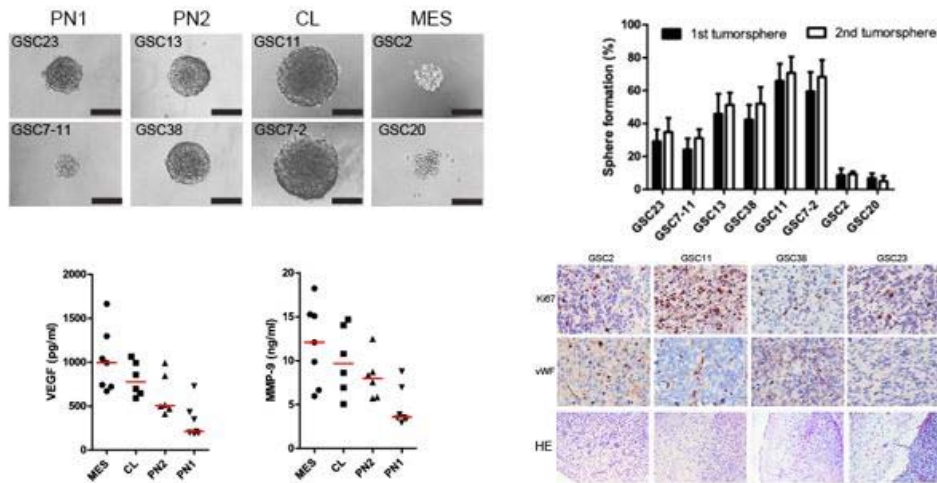
次に免疫染色にて各サブタイプにおける神経分化マーカーの発現解析を行った。グリオーマ幹細胞は

それぞれ異なる神経分化マーカーの発現傾向を示し、また神経系と間葉系という異なる分化方向性を示した。Sox2, Olig2, Nestin など神経幹細胞マーカーはPN2とCLで発現が高く、GFAPやS100βなどのアストロサイト系マーカーはPN1で高発現を示していた。グリア系マーカーであるA2B5, GLASTはPN2とCLで高発現であった。これらの結果よりPN2とCLは正常ヒト胎児脳由来幹細胞HFB2050と類似した性質を示すことが推測された。さらにはPN1が分化傾向を示しているのに比べ、PN2とCLはより原始的な幹細胞性を維持していると推測される (Fig.2)。



- Most PN2 and CL GSCs displayed tri-lineage differentiating potential, while PN1 GSCs rarely differentiated into oligodendrocytic lineage.
- MES GSCs were less likely to differentiate into astrocytic, neuronal and oligodendrocytic lineage,

Figure 3.



- GSC subtypes exhibit distinct biological behaviors in self-renewal capacity, proliferation, invasiveness, angiogenic potential.
- Classical subtype being more proliferative and Mesenchymal subtype being more angiogenic and invasive.

Figure 4.

我々はさらに各マーカーの発現パターンを培養下と移植モデル間で比較を行った。その結果グリオーマ幹細胞は移植モデルにおいても培養下と同様の性質を保持していた (Fig.2)。

グリオーマ幹細胞は各サブタイプによって異なる細胞性質を示す

(1) 分化能

分化誘導培地 (含 1μM Retinoic acid) を使用しグリオーマ幹細胞の分化能を検証した所、PN2 と CL

はアストロ系、ニューロン系、オリゴ系の3系統に分化する能力を示した。また PN1 はアストロ系とニューロン系、Mes は分化誘導培地に抵抗性を示した (Fig.3)。

(2) 増殖能

サブタイプ間におけるグリオーマ幹細胞の増殖能を比較するため、Neurosphere assay を行った。CL は大きな sphere を形成するのに対し、Mes はその他のサブタイプに比べ小さい sphere を形成した。また増殖速度も CL サブタイプは Mes サブタイプより速い

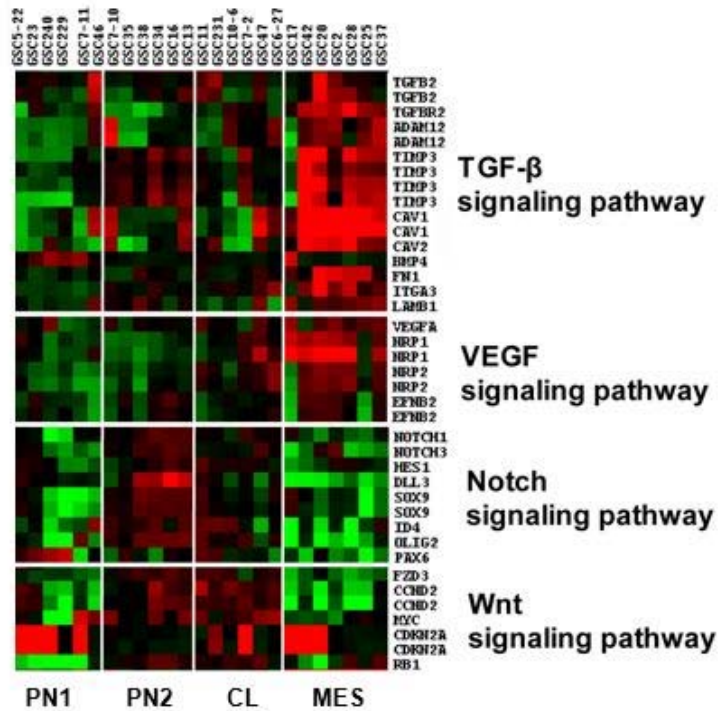


Figure 5.

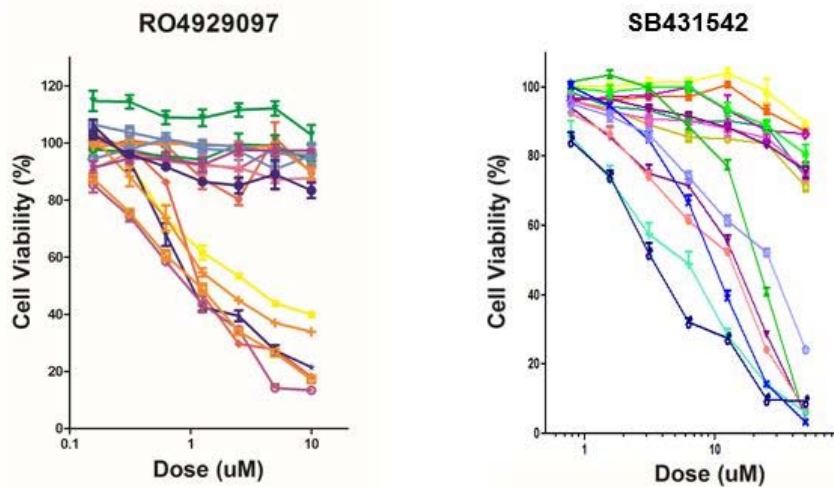


Figure 6.

傾向を示した (Fig.4).

(3) 血管新生及び浸潤能

各グリオーマ幹細胞をマウス脳に移植した動物モデルを作成し検討を行った。Mes 移植モデルは高い浸潤能を示すのに対し、PN1 は周囲正常脳と境界明瞭な腫瘍を形成した。さらに PN1 では vWF 染色が陰性であり血管新生能の低いと推測された。同様に培養下においても PN1 では VEGF と MMP-9 の活性が有意に低かった。増殖能を調べるため ki-67 染色を行ったところ、CL では強発現しており、出血や壊死を伴っていた (Fig.4)。

各サブタイプにおいて特徴的なシグナル経路の活性化を示す

ANOVA 解析にてグリオーマ幹細胞の各サブタイプで有意差のある遺伝子発現を抽出したところ、多くが Wnt、Notch、TGFβ 回路に含まれる遺伝子であった。これらの結果はグリオーマ幹細胞の各サブタイプにおいてシグナル伝達系が異なる活性化/不活性化パターンを示すことを示唆している。Mes サブタイプにおいては TGFβ 回路の活性化と、Wnt ならびに Notch 回路の不活性化されていた。Notch 回路は PN2 と CL で活性化され、PN1 で不活性化されていた (Fig.5)。

またシグナル伝達の機能解析を行うため、Notch 阻害薬 (RO4929097) と TGF β 阻害薬 (SB413542) を使用し培養下に投与した。その結果、PN2 は Notch 阻害薬に高い感受性を示し、Mes は TGF β 阻害薬に高い感受性を示した (Fig.6)。

【考察】

TCGA を利用したデータ解析によって神経膠芽腫が Proneural, Neural, Classical, Mesenchymal のサブタイプに分類された。グリオーマ幹細胞における膠芽腫のサブタイプ対応の解析は分子標的治療の開発に非常に重要と思われる。今回我々はグリオーマ幹細胞培養細胞の遺伝子発現解析により 4 つのサブタイプ分類を報告した。今回の解析では unsupervised clustering による解析結果が膠芽腫の 4 サブタイプ分類に用いられた 840 遺伝子による supervised clustering の解析結果を完全に一致していた。今解析では Neural subtype は同定できなかったが、その理由としてはサンプル数が限られていたことやこのタイプのグリオーマ幹細胞の樹立が技術的に困難であることなどがあげられる。

最近の研究では A2B5, NG2, CD44 を発現しているグリオーマ細胞が腫瘍形成能を示す幹細胞 (=グリオーマ幹細胞) の条件を満たしていることが明らかになった。我々の結果でも PN2 と CL はより原始的な幹細胞能を維持しており、PN1 はより分化した性質を、Mes は YKL40 を発現し間葉系に分化傾向を示している。これらサブタイプ間の違いは異なる分化傾向を反映しており、PN2 や CL は多くの幹細胞マーカーを発現し、3 方向への分化能を持っている。反対に PN1 は GFAP が強発現し SVZ アストロサイトに似た性質を示し、Mes は神経細胞系へは分化しにくい傾向を示した。

近年、Wnt, Notch, TGF- β などのシグナル伝達がグリオーマ幹細胞において細胞増殖や自己修復能などに関与していることが明らかになった。本研究ではグリオーマ幹細胞がそれぞれ特異的なシグナル伝達系の活性化、不活化を示すことを明らかにした。興味深いことに Mes サブタイプでは TGF- β が活性化し Wnt, Notch, が不活化されているの対し、PN2 サブタイプでは Notch シグナルが活性化していた。これらの結果はグリオーマ幹細胞がサブタイプごとに異なるシグナル伝達系で維持されている可能性を示すもので、グリオーマ幹細胞をターゲットとした新規治療開発に有用なデータと考える。

【結論】

本研究によってグリオーマ幹細胞のサブタイプが TCGA データによる膠芽腫のサブタイプと類似しており、それぞれが異なる直ぐなる伝達の活性化、分

化方向性、生物学的性質を示すことが明らかになった。さらに動物モデルにおいてもその性質は維持されていた。我々の研究結果が膠芽腫の病態解析ならびにグリオーマ幹細胞をターゲットとした新規治療開発に役立つものとする。

【文献】

- 1) Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 2010; 17: 98-110.
- 2) Saito N, Fu J, Zheng S, et al. A High Notch Pathway Activation Predicts Response to γ Secretase Inhibitors in Proneural Subtype of Glioma Tumor-Initiating Cells. *Stem Cells*. 2014;32(1):301-12.
- 3) Purow B, Schiff D. Advances in the genetics of glioblastoma: are we reaching critical mass? *Nat. Rev. Neurol.* 2009; 5: 419-426.
- 4) Nagarajan RP, Costello JF. Molecular epigenetics and genetics in neuro-oncology. *Neurotherapeutics* 2009; 6:436-446.
- 5) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005; 352: 987-996.
- 6) Koul D, Jasser SA, Lu Y, et al. Motif analysis of the tumor suppressor gene MMAC/PTEN identifies tyrosines critical for tumor suppression and lipid phosphatase activity. *Oncogene* 2002; 21: 2357-2364.
- 7) Tso CL, Freije WA, Day A, et al. Distinct transcription profiles of primary and secondary glioblastoma subgroups. *Cancer Res.* 2006; 66: 159-167.
- 8) Cooper LA, Gutman DA, Long Q, et al. The proneural molecular signature is enriched in oligodendrogliomas and predicts improved survival among diffuse gliomas. *PLoS One* 2010; 5: e12548.
- 9) Purow B, Schiff D. Advances in the genetics of glioblastoma: are we reaching critical mass? *Nat. Rev. Neurol.* 2009; 5: 419-426.
- 10) Colman H, Zhang L, Sulman EP, et al. A multigene predictor of outcome in glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2010; 12: 49-57
- 11) Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396-401.
- 12) Ikushima H, Todo T, Ino Y, et al. Glioma-initiating

- cells retain their tumorigenicity through integration of the Sox axis and Oct4 protein. *J Biol Chem.* 2010; 286: 41434-41441.
- 13) Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101: 781-786.
- 14) Mladkova N, Chakravarti A. Molecular profiling in glioblastoma: prelude to personalized treatment. *Curr. Oncol. Rep.* 2009; 11: 53-61.

第 45 回 ニューロ・オンコロジーの会

当番世話人 東京女子医科大学 脳神経外科
丸山 隆志

- 主 題 1) 悪性グリオーマにおける手術の役割と新治療
2) 診断・治療に苦慮した症例、珍しい症例など
- 日 時 : 平成 25 年 7 月 28 日(日) 09:30~15:00
- 場 所 : 東京女子医科大学・早稲田大学連携先端生命医科学研究教育施設 (TWIns)
2 階ラウンジ
- 住 所 : 東京都新宿区若松町 2-2
当日連絡先 : 東京女子医科大学 03-3353-8111 (代表)

プログラム

第 I 部 診断・治療に苦慮した症例、珍しい症例など

(発表 6 分、討論 4 分) 09:30~10:50

座 長 小森 隆司 先生 (東京都立神経病院 神経病理)

1. 診断に苦慮し二度の定位生検を要した CNS Lymphomatoid granulomatosis (LYG) の 1 例
今中 康介 先生 (東京女子医科大学 脳神経外科)
2. Anaplastic oligodendroglioma or clear cell ependymoma?
北井 隆平 先生 (福井大学 脳脊髄神経外科)
3. 診断に苦慮した anaplastic neuroepithelial tumor with glioneuronal immunophenotype の一例
鈴木 雄太 先生 (東京慈恵会医科大学 脳神経外科)
4. Pilocytic astrocytoma の 1 剖検例
小倉 良介 先生 (新潟大学脳研究所 脳神経外科)
5. 髄液鼻漏にて発症した下垂体腺腫の一例
安藤 俊平 先生 (東邦大学医療センター佐倉病院 脳神経外科)
6. 腫瘍内出血にて発症し悪性転化をきたした多形黄色星細胞腫の一例
及川 光照 先生 (中村記念病院 脳神経外科)
7. 摘出を試みた脳幹部 embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes (ETANTR) の 1 例
寺川 雄三 先生 (大阪市立大学大学院医学研究科脳神経外科学)
8. BCNU wafers を併用した頭頂葉膠芽腫摘出後ガス貯留により片麻痺を含めた重篤な合併症を生じた 2 症例
大澤 成之 先生 (北里大学医学部 脳神経外科学)

= Coffee Break =
10 分

第Ⅱ部 特別講演Ⅰ

11:00~11:45

座長 伊関 洋 先生（東京女子医科大学先端生命医科学研究所）

『悪性神経膠腫の遺伝子解析と治療』

熊本大学医学部附属病院 脳神経外科 講師 中村 英夫 先生

第Ⅲ部 特別講演Ⅱ

11:45~12:30

座長 村垣 善浩 先生（東京女子医科大学先端生命医科学研究所）

『悪性脳腫瘍に対する手術療法の意義』

北里大学医学部 脳神経外科学 教授 隈部 俊宏 先生

= Coffee Break =
10分

第Ⅳ部 悪性グリオーマにおける手術の役割と新治療（発表8分、討論4分）

12:40~15:00

座長 丸山 隆志 先生（東京女子医科大学 脳神経外科）

1. 髄液播種を起こした膠芽腫の臨床学的・組織学的検討
篠山 隆司 先生（神戸大学医学部 脳神経外科）
2. 視床の悪性神経膠腫に対する外科的切除術
埜中 正博 先生（国立病院機構 大阪医療センター 脳神経外科）
3. 視床神経膠腫における摘出術の適応と有用性についての検討
新田 雅之 先生（東京女子医科大学 脳神経外科）
4. これまでの glioma 手術をふりかえって
小林 浩之 先生（北海道大学 脳神経外科）
5. 島回神経膠腫の手術結果と今後の方針
丸山 隆志 先生（東京女子医科大学 脳神経外科）
6. テモゾロミド認可前後での膠芽腫の摘出率と生存期間の関係
中田 光俊 先生（金沢大学 脳神経外科）
7. 初発膠芽腫に対するワクチン療法を含む集学的治療における可及的腫瘍摘出の重要性
石川 栄一 先生（筑波大学医学医療系 脳神経外科）

8. 高齢者膠芽腫に対する治療を考える
荒川 芳輝 先生（京都大学大学院医学研究科 脳神経外科学）
9. 再発膠芽腫における再摘出術の役割と有用性
横矢 重臣 先生（杏林大学医学部 脳神経外科）
10. 再発神経膠芽腫に対する Tomotherapy IMRT 治療 -PET/CT/MRI fusion 画像による線量計画-
三輪 和弘 先生（木沢記念病院 中部療護センター）
11. The Cancer Genome Atlas (TCGA) データの glioma stem cell 研究への応用：
新規分子標的治療の開発を目指して
齋藤 紀彦 先生（東邦大学医療センター大橋病院 脳神経外科）



- * 参加費として、受付で2,000円頂きます。
- * ご参加の先生方は、日本脳神経外科専門医クレジット（3点）を取得できます。
- * 本会におきましては、規則により弊社による旅費の負担ができませんことをご了承下さい。
- * 本会終了後、意見交換会をご予定しております。

共催：ニューロ・オンコロジーの会
MSD株式会社

都営地下鉄大江戸線 若松河田駅下車、徒歩5分
牛込柳町駅下車、徒歩5分

世話人一覧

平成 26 年 4 月

世話人

秋元 治朗 (会計)
足立 好司
井内 俊彦
泉山 仁
岡 秀宏
篠田 宗次
渋井 壮一郎 (会計監査)
常喜 達裕
周郷 延雄
山本 哲哉
武笠 晃丈
永根 基雄
苗代 弘
西川 亮
藤巻 高光
松野 彰
丸山 隆志
水本 斉志
村垣 善浩 (代表世話人)
佐々木 光
吉野 篤緒
丹下 祐一
佐藤 秀光
青山 英史

施設

東京医科大学付属病院
日本医科大学武蔵小杉病院
千葉県がんセンター
昭和大学藤が丘病院
北里大学医学部脳神経外科
古河赤十字病院
国立がん研究センター中央病院
東京慈恵会医科大学 脳神経外科
東邦大学医療センター大森病院
筑波大学附属病院
東京大学
杏林大学医学部脳神経外科
防衛医科大学校脳神経外科
埼玉医科大学国際医療センター
埼玉医科大学病院
帝京大学ちば総合医療センター
東京女子医科大学病院
筑波大学附属病院
東京女子医科大学病院
慶應義塾大学病院
駿河台日本大学病院
順天堂大学医学部附属順天堂医院
神奈川県立がんセンター
新潟大学放射線科

事務局

前林 勝也

東京女子医科大学病院