

小児神経芽腫群における GD2, GD3 発現の病理学的検討
(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程
病理系形態病理学専攻

西巻 はるな

修了年 2018 年

指導教員 増田 しのぶ

論文の要旨

背景：小児の神経芽腫群腫瘍 (peripheral neuroblastic tumors: pNTs) は、小児期における頭蓋外固形腫瘍の中で最も発生頻度が高い腫瘍である。胎生期の神経堤を起源とし、交感神経節の分布する副腎髄質や、後腹膜に好発する。初発時の症状は原発および転移巣の部位によって、発熱、全身倦怠感、貧血、腹部腫瘤、眼瞼出血などさまざまである。自然経過は様々で、全身に病変が広がった状態でも自然消退や腫瘍細胞の分化により良好な予後が望めるものから、現在の集学的治療がなされても、致死的な経過をたどる予後不良なものまで幅広い臨床経過を示すことが知られている。とくに pNTs の一群である神経芽腫 (neuroblastoma: NB) は、15 歳以下の悪性腫瘍の 10.3% を占め、3 歳から 4 歳までの乳幼児期に発生するが、年長児や成人にも稀にみられる。long-term survival は 40% 以下とされている。pNTs の腫瘍細胞は、年齢とともに分化・成熟を果たすという事実が知られており、病理分類は、発症年齢と組織型の対応によって予後判定基準が取り入れられている。高リスク群に対しては、強力な多剤併用の寛解導入療法と、手術摘出および放射線治療による局所治療を行い、最後に自己造血幹細胞移植を併用した大量療法を行うという集学的治療法が一般的であるが、再発症例群は少なくなく、未だ確立した救済療法はない。NB にはガングリオシドの一つである GalNAc_{1,4}(NeuAca_{2,8}NeuAca_{2,3}) Gal_{1,4}Glc-Cer (以下 GD2) が高発現していると報告されており、GD2 を標的とした抗 GD2 抗体療法が新しい治療法として登場した。既に 3 種類のモノクローナル抗体 (14G2a, ch14.18, 3F8) が登場し、その治療効果が報告されているキメラ抗 GD2 抗体 ch14.18 は、FDA で認可さ

れている。欧州では、欧州の慈善基金の資金援助を受けているヨーロッパ神経芽腫研究グループの委託により、チャイニーズハムスターの卵巣胞を利用して ch14.18 を再製造し、さらに Apeiron 社が ch14.18/CHO 抗体 (欧州で開発されているタイプのジヌツキシマブ [dinutuximab] であるジヌツキシマブ-beta) を開発した。本邦では、現在、薬事承認をめざして施設限定で医師主導治験が進められており、高リスク群の治療における導入が期待されている。

GD2 を含むガングリオシドは脳神経に多く存在して、神経組織の形成や機能に必須であることが想定されてきた。また、その糖鎖構造が多彩である点からも、脳神経系における調整的役割が想定されてきた。また、神経生理に寄与しているだけでなく、チロシンキナーゼファミリーレセプターとの相互作用も指摘されている。ガングリオシドは、EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), PDGFR (Platelet-Derived Growth Factor Receptor), FGFR (Fibroblast Growth Factors Receptor), TrkA (tropomyosin receptor kinase A) 受容体などの活性を制御している。ガングリオシドは神経外胚葉由来の腫瘍や、その他の固形腫瘍、白血病細胞の一部でいくつかの癌腫で発現し、かつ抗体治療の標的あるいは腫瘍マーカーとして、利用可能であることが期待されている。しかし、神経芽腫群腫瘍において、GD2 とその前駆物質である NeuAca2,8NeuAca2,3Galb1,4Glc-Cer (以下 GD3) を免疫組織学的に評価した報告は少なく、pNTs において、どのような症例が GD2, GD3 陽性となるのかを系統的に評価した報告はない。

目的: 神経芽腫群腫瘍における GD2 とその前駆物質である GD3 陽性腫瘍の特徴を臨床因子、病理所見、糖脂質合成の観点から明らかにすることを目的とした。

対象と方法：2000年から2015年に日本大学医学部附属板橋病院にて、神経芽腫群（神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節腫）と診断された初発未治療症例のうち、RNA抽出に適した35症例を対象とした。糖脂質GD2, GD3に対する免疫組織学的検討およびガングリオシド合成に関わる糖転移酵素のmRNAの遺伝子発現定量解析を行った。

結果：GD2, GD3陽性/陰性所見と臨床因子ならびにガングリオシド合成に関わる糖転移酵素の発現量とに有意な関係性は示されなかった。

GD2, GD3の細胞内局在（細胞質、核）と臨床因子について多変量解析を行った結果、COGリスク分類と、GD2の細胞質陽性所見に関連性が認められた（ $P=0.033$ ）。

また、GD2, GD3の細胞内局在（細胞質、核）について、多変量解析（数量化3類）で解析したところ、第I群（GD2核陽性, GD3細胞質低スコア）～第III群（GD2核陰性, GD3細胞質高スコア）に分類された。第I群（GD2核陽性, GD3細胞質低スコア症例群）ではGD2合成酵素およびGD1b合成酵素が高発現であり（ $P=0.037$, $P=0.032$ ）、第III群（GD2核陰性, GD3細胞質高スコア症例群）ではGD3合成酵素が高発現だった（ $P=0.010$ ）。

考察：今回の検討を始めるにあたり、神経芽腫群の組織型（神経細胞への分化の程度が高いほうからGN, GNB, NB）とGD2, GD3の免疫組織学的陽性所見や合成酵素の発現レベルに何らかの相関関係があるのではないかと、という仮説を有

していたが、いずれにも相関関係は見いだせなかった。しかし、GD2、GD3 の細胞内局在に着目した検討により、COG リスク分類と GD2 の細胞質陽性所見に関連性が示された。今後さらに、症例数を増やして予後因子、あるいは抗 GD2 抗体療法に対する効果予測因子としての有用性を検討する意義が示唆された。

GD2 核陽性、GD3 細胞質低スコア群 (第 I 群) では、GD2 合成酵素、GD1b 合成酵素が高発現であり、GD2 合成は行われているものと考えられた。糖転移反応は、通常ゴルジ内で行われるため、細胞質内で合成された GD2 が何らかの要因により核内に移行していると考えられるが、その機序は不明である。GD2 核陰性、GD3 細胞質高スコア群 (第 III 群) では、GD3 合成酵素が高発現であった。これらの GD2 核陰性症例の半数は細胞質にも陰性であり、GD2 合成障害があり GD3 から GD2 への変換が行われていない、あるいは速やかに GD1b に変換している可能性が考えられた。

GD3 の正常組織における役割から、pNTs における GD3 発現の生物学的意義を文献的に考察した。GD3 は、EGFR と相互作用することで神経幹細胞の自己再生と分化の維持に寄与していると考えられている。増殖した未熟な神経細胞はプログラム死に至り、残った未熟な神経細胞は分化する。その分化の過程では、次のようなことが起きている。神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) は、tropomyosin receptor kinase A (Trk A) 受容体に結合し、Ras/Raf/MEK/Erk pathway を活性化することで、神経突起の延長を誘導する。GD3 合成酵素の過剰発現は、Ras/Raf/MEK/Erk pathway を持続的に活性化させることが知られている。このように GD3 は、神経細胞の増殖と分化のいずれにも関与している可能性が示されており、今回の検討で GD3 の細胞質高スコア群と細胞質低スコア群に分類され

たことは興味深い。

培養細胞を用いた実験により, apoptosis を誘導すると, GD3 が核内に移行することが報告されており, GD3 核陽性所見は apoptosis と関連し, 増殖制御と関係している可能性が指摘されている。本検討において GD3 核陽性所見と pNTs におけるリスク因子に直接の関わりは示されなかったが, GD3 核陽性症例は, GD2 細胞質陰性症例に多く, 多変量解析で COG リスク分類と GD2 細胞質陽性所見とに有意差がみられたことなどを考えると, GD3 核陽性所見が低悪性度の指標になる可能性も残されている。GD2 とともに GD3 陽性所見の pNTs における臨床的意義については, さらなる検討が必要である。

まとめ： 神経芽腫群腫瘍の病理組織検体を用いて, GD2, GD3 の細胞内局在, 糖転移酵素発現量を解析した。GD2 細胞質陽性所見は COG リスク分類と有意に関連していた。また, GD2 核陽性, GD3 細胞質低スコア症例群では GD2 合成酵素および GD1b 合成酵素が高発現であり, GD2 核陰性, GD3 細胞質高スコア症例群では GD3 合成酵素が高発現であった。