



Association of preoperative seizures with reduced expression of soluble CD163, an M2 macrophage marker, in the cerebrospinal fluid in isocitrate dehydrogenase wild-type...

山西, 俊介

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2025-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第9062号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100496343>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Association of preoperative seizures with reduced expression of soluble CD163, an M2 macrophage marker, in the cerebrospinal fluid in isocitrate dehydrogenase wild-type glioblastoma

髄液中 M2 マクロファージマーカーsoluble CD163 の低下は
IDH 野生型膠芽腫の術前てんかんと関連する

(指導教員：神戸大学大学院医学研究科医科学専攻篠山隆司教授)

山西 俊介

諸言：

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) 野生型膠芽腫 (GBM) は予後不良な疾患であり、集学的治療を行っても、平均生存期間は1年半と極めて短い。

てんかん発作は膠芽腫患者の49%で認めるという報告もあり、一度起こると患者のQOLを著しく低下させる。腫瘍関連てんかんの原因として、腫瘍の局在、神経炎症、慢性虚血、過剰電位など様々な説が論じられているが、腫瘍免疫微小環境 (TME) に関連した報告は少ない。

今回我々は、髄液、3テスラMRスペクトロスコピー (3T-MRS)、手術標本を用い、TMEと術前てんかんとの関係について調べ、術前てんかん発作を予測するバイオマーカーの検出を試みた。

方法：

2017年1月から2023年12月に神戸大学医学部附属病院で、術前髄液採取、MRS撮影、脳腫瘍生検または摘出が施行されたIDH野生型テント上GBM患者47例を対象とした。術前に腰椎穿刺によって得られた髄液を用い、ELISAでM2マクロファージマーカーである可溶性CD163 (soluble CD163; sCD163) を測定し、手術標本中のCD163発現との相関関係を調べた。MRI/MRSは3T-MRI (Philips, PRESS TE 35ms) を使用し、解析ソフトとしてLC-modelを用い腫瘍内代謝産物を測定した。後方視的に術前の年齢、性別、MRI所見、てんかん発作の有無を評価した。

結果：

対象となった47例中、12例 (25.5%) で術前てんかんを認めた。年齢はてんかん群で低く (Mann-Whitney *U* test, $p=0.0273$)、MRSを用いた代謝産物測定では還元型グルタチオン (GSH) のみ、てんかん群で高値であった (Mann-Whitney *U* test, $p=0.0171$)。髄液中のsCD163は、組織中のCD163と正の相関関係にあり、いずれもてんかん群で有意に低値であった (Mann-Whitney *U* test, $p=0.0124$, $p=0.0171$)。組織中のCD163とGSHは逆相関関係にあった。ROC曲線を用いた

解析でカットオフ値を 74 ng/ml とすると、髄液中の sCD163 の術前てんかん予測精度は感度 91.7%、特異度 54.3%、AUC 0.745 であった。

考察：

腫瘍関連てんかんの原因には諸説あるが、その一つとしてグルタミン酸に関連したものがある。グルタミン酸トランスポーターの低下は細胞外グルタミン酸の上昇をきたし、てんかんを誘発する。また、グルタミン酸はシスチン・グルタミン酸交換輸送体によっても細胞外に放出され、代わりに GSH 合成に関与するシスチンが細胞内に取り込まれる。細胞内シスチン上昇に伴う GSH 上昇および細胞外へのグルタミン酸放出が術前てんかんに寄与した可能性がある。

GSH は炎症誘発性サイトカインを上方制御し、M1 マクロファージへの分化を促進する。M1 マクロファージは炎症性サイトカインを分泌し、てんかん発症に関与する。一方、M2 マクロファージは抗炎症作用を有する。TME は M1 マクロファージおよび M2 マクロファージの相互関係の影響を受けるが、腫瘍関連マクロファージの大部分は M2 マクロファージである。M2 マクロファージはその表面に CD163 を発現しており、一部が髄液中に sCD163 として放出される。本研究において、髄液中の sCD163 および組織中の CD163 陽性 M2 マクロファージは、いずれも MRS で測定された腫瘍内 GSH と負の相関関係にあり、いずれも術前てんかん発症群で有意に低値であった。

髄液および MRS を用いた術前てんかん予測には二つの利点がある。一点目は術前抗てんかん薬の開始や終了を判断するのに役立つことが挙げられる。適切な時期に適切な量の抗てんかん薬を投与することで、副作用を減らしつつ、てんかん発症を制御できる可能性がある。加えて、sCD163 と術前てんかんについて調べることは、新規てんかん治療薬の開発に繋がる可能性もある。二点目に検査の侵襲度が低く、既存の術前検査に加えやすいということが挙げられる。MRS は非侵襲的に脳内代謝物を測定することができ、通常実施される MRI と同時に撮影することができる。髄液検査は、初発てんかん患者でしばしば実施される。本研究では、頭蓋内圧が高値でないと思われる患者にのみ腰椎穿刺による髄液

検査を行い、幸い、腰椎穿刺に伴う合併症は一例も認めなかった。

本研究は IDH 野生型 GBM 患者において、髄液中 sCD163 の低下が術前てんかんに関連することを示した初めての報告であるが、以下のようにいくつかの限界がある：①後方視的研究であり症例数が少ないこと、②腫瘍内の代謝物を直接調べていないこと、また組織内 M1 マクロファージ量や髄液中の M1 マクロファージマーカーおよび炎症物質を測定していないこと、③MRS による代謝物測定箇所が検者による選択バイアスを受ける可能性があること、④ステロイド投与による影響を加味していないこと、⑤sCD163 と術後てんかんの関連を調べていないこと。今後、本研究の結果をより強固なものとするために、基礎実験や大規模コホート研究が必要であると考えられる。

結論：

IDH 野生型 GBM 患者において、髄液中の sCD163 低下は術前てんかんと関連があることが示された。さらに髄液中の sCD163 は、腫瘍組織中の M2 マクロファージ量と正の相関関係にあり、MRS で測定された腫瘍代謝物である GSH と負の相関関係にあった。これらの結果から、髄液中の sCD163 を測定することは TME を予測する上で重要であり、M2 マクロファージへの分化は M1 マクロファージを減少させ、術前てんかん発症を抑制する可能性が示唆された。

(2015 字)

神戸大学大学院医学(系)研究科(博士課程)

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲第 3441 号	氏 名	山西 俊介
論 文 題 目 Title of Dissertation	Association of preoperative seizures with reduced expression of soluble CD163, an M2 macrophage marker, in the cerebrospinal fluid in isocitrate dehydrogenase wild-type glioblastoma 髄液中M2 マクロファージマーカーsoluble CD163 の低下はIDH 野生型 膠芽腫の術前てんかんと関連する		
審 査 委 員 Examiner	主 査 Chief Examiner 佐々木 研 副 査 Vice-examiner 永瀬 祐朗 副 査 Vice-examiner 南田 順一		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

諸言:

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) 野生型膠芽腫 (GBM) は予後不良な疾患であり、集学的治療を行っても、平均生存期間は1年半と極めて短い。てんかん発作は膠芽腫患者の49%で認めるという報告もあり、一度起こると患者のQOLを著しく低下させる。腫瘍関連てんかんの原因として、腫瘍の局在、神経炎症、慢性虚血、過剰電位など様々な説が論じられているが、腫瘍免疫微小環境 (TME) に関連した報告は少ない。今回我々は、髄液、3 テスラMR スペクトロスコピー (3T-MRS)、手術標本を用い、TME と術前てんかんとの関係について調べ、術前てんかん発作を予測するバイオマーカーの検出を試みた。

方法:

2017 年1 月から2023 年12 月に神戸大学医学部附属病院で、術前髄液採取、MRS 撮影、脳腫瘍生検または摘出が施行されたIDH 野生型テント上GBM 患者47 例を対象とした。術前に腰椎穿刺によって得られた髄液を用い、ELISA でM2マクロファージマーカーである可溶性CD163 (soluble CD163; sCD163) を測定し、手術標本中のCD163 発現との相関関係を調べた。MRI/MRS は3T-MRI (Philips, PRESS TE 35ms) を使用し、解析ソフトとしてLC-modelを用い腫瘍内代謝産物を測定した。後方視的に術前の年齢、性別、MRI所見、てんかん発作の有無を評価した。

結果:

対象となった47 例中、12 例 (25.5%) で術前てんかんを認めた。年齢はてんかん群で低く (Mann-Whitney U test, $p=0.0273$)、MRS を用いた代謝産物測定では還元型グルタチオン (GSH) のみ、てんかん群で高値であった (Mann-Whitney U test, $p=0.0171$)。髄液中のsCD163は、組織中のCD163と正の相関関係にあり、いずれもてんかん群で有意に低値であった (Mann-Whitney U test, $p=0.0124$, $p=0.0171$)。組織中のCD163 とGSH は逆相関関係にあった。ROC 曲線を用いた解析でカットオフ値を74 ng/ml とすると、髄液中のsCD163 の術前てんかん予測精度は感度 91.7%、特異度54.3%、AUC 0.745 であった。

考察:

腫瘍関連てんかんの原因には諸説あるが、その一つとしてグルタミン酸に関連したものがある。グルタミン酸トランスポーターの低下は細胞外グルタミン酸の上昇をきたし、てんかんを誘発する。また、グルタミン酸はシスチン・グルタミン酸交換輸送体によっても細胞外に放出され、代わりにGSH 合成に関与するシスチンが細胞内に取り込まれる。細胞内シスチン上昇に伴うGSH 上昇および細胞外へのグルタミン酸放出が術前てんかんに寄与した可能性がある。GSH は炎症誘発性サイトカインを上方制御し、M1 マクロファージへの分化を促進する。M1マクロファージは炎症性サイトカインを分泌し、てんかん発症に関与する。一方、M2マクロファージは抗炎症作用を有する。TME はM1マクロファージおよびM2 マクロファージの相互関係の影響を受けるが、腫瘍関連マク

ロファージの大部分はM2マクロファージである。M2マクロファージはその表面にCD163 を発現しており、一部が髄液中にsCD163 として放出される。本研究において、髄液中のsCD163 および組織中のCD163 陽性M2 マクロファージは、いずれもMRS で測定された腫瘍内GSH と負の相関関係にあり、いずれも術前てんかん発症群で有意に低値であった。髄液およびMRS を用いた術前てんかん予測には二つの利点がある。一点目は術前抗てんかん薬の開始や終了を判断するのに役立つことが挙げられる。適切な時期に適切な量の抗てんかん薬を投与することで、副作用を減らしつつ、てんかん発症を制御できる可能性がある。加えて、sCD163と術前てんかんについて調べることは、新規てんかん治療薬の開発に繋がる可能性もある。二点目に検査の侵襲度が低く、既存の術前検査に加えやすいということが挙げられる。MRSは非侵襲的に脳内代謝物を測定することができ、通常実施されるMRI と同時に撮影することができる。髄液検査は、初発てんかん患者でしばしば実施される。本研究では、頭蓋内圧が高値でないと思われる患者にのみ腰椎穿刺による髄液検査を行い、幸い、腰椎穿刺に伴う合併症は一例も認めなかった。本研究はIDH 野生型GBM 患者において、髄液中sCD163 の低下が術前てんかんと関連することを示した初めての報告であるが、以下のようにいくつかの限界がある:①後方視的研究であり症例数が少ないこと、②腫瘍内の代謝物を直接調べていないこと、また組織内M1マクロファージ量や髄液中のM1マクロファージマーカーおよび炎症物質を測定していないこと、③MRS による代謝物測定箇所が検者による選択バイアスを受ける可能性があること、④ステロイド投与による影響を加味していないこと、⑤sCD163と術後てんかんの関連を調べていないこと。今後、本研究の結果をより強固なものとするために、基礎実験や大規模コホート研究が必要であると考えられる。

結論:

IDH 野生型GBM 患者において、髄液中のsCD163 低下は術前てんかんと関連があることが示された。さらに髄液中のsCD163は、腫瘍組織中のM2マクロファージ量と正の相関関係にあり、MRS で測定された腫瘍代謝物であるGSH と負の相関関係にあった。これらの結果から、髄液中のsCD163を測定することはTME を予測する上で重要であり、M2 マクロファージへの分化はM1マクロファージ量を減少させ、術前てんかんを引き起こすことが示唆された。

本研究は、髄液中のsCD163 低下は術前てんかんと関連を調べた研究であり、価値のある業績であることを認める。本研究、及び、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。