

ミニ・レビュー

CGH法による脳腫瘍の細胞遺伝学的解析

西崎 隆 文

山口大学医学部脳神経外科 宇部市南小串 1-1-1 (〒755-8505)

Key words : CGH, 脳腫瘍, 染色体異常

はじめに

頭蓋内には極めて多岐にわたる腫瘍が発生し、さらに同一分類の腫瘍においても悪性度や増殖能は多彩で、その臨床経過は一様ではない。これらの事実には染色体、遺伝子異常の関与が少なからず指摘されている。染色体異常の検出には従来、核型分析法が用いられてきたが、特に緩徐な発育を示す脳腫瘍では、分析に重要な分裂期染色体を得ることは容易ではない。RFLP、PCR-SSCP法などでは遺伝子レベルの詳細な変化が検出されるが、その解析には特定のマーカーが必要で、全ゲノム上の異常を調べることは不可能である。1992年にKallioniemiらによって開発されたcomparative genomic hybridization (CGH)は、腫瘍のDNAコピー数の増減を一度の手技で検出する有用な方法である¹⁾。上記の分子生物学的手法に比べるとsensitivityの面では劣るが、全ゲノム上の染色体、遺伝子異常を検出できる点で優れている。CGHによるスクリーニングは、染色体異常の連鎖や規則性、さらには腫瘍のgenetic pathwayについての類推を可能とする。今回、小西賞受賞対象論文はグリオーマのCGH解析である。ミニレビュー寄稿にあたり、CGH法の原理を説明し、我々がこ

れまでに行ってきた脳腫瘍のCGH解析を中心に、最近の知見とともに解説する。

CGH法の原理

CGH法は、腫瘍DNAと正常リンパ球DNAを異なる蛍光色素で標識し、正常リンパ球の分裂期染色体上に競合的にハイブリダイズさせ、各染色体の蛍光量の差から、腫瘍のDNAコピー数の増減を調べるものである (Fig. 1)^{2,3,4)}。腫瘍側の染色体上のDNAコピー数が正常であれば、緑色および赤色蛍光プローブはほぼ等しくハイブリダイズする。腫瘍の染色体コピー数の増加(gain)や遺伝子増幅(amplification)のある場合は、緑色蛍光が赤色蛍光に比べ相対的に強くハイブリダイズする。逆に欠失(loss)があれば赤色蛍光が強くハイブリダイズする。

DNA標識とハイブリダイゼーション：健常人末梢血から採取したリンパ球を同調培養し、分裂中期染色体を作製し、スライドガラス上に細胞をカルノア固定し保存する。ニックトランスレーション法により腫瘍DNAを緑色蛍光(FITCまたはSpectrum Green)で、正常リンパ球DNAを赤色または橙色蛍光(Texas RedまたはSpectrum Orange)で標識し、2種類のDNAプローブを作製する。Cot-1 DNA (セントロメア近傍の反復配列の多い領域へのプローブ結合を

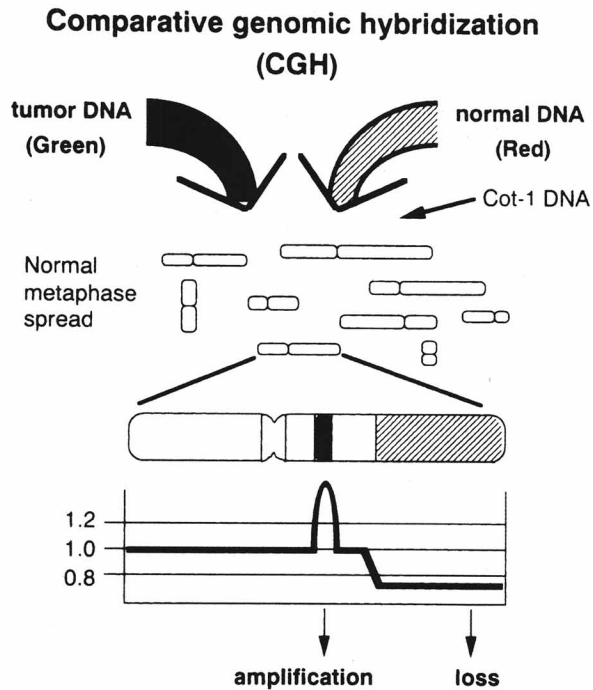


Fig. 1 : Diagram illustrating the sequence of events in comparative genomic hybridization (CGH). Tumor genomic DNA probe (green) and normal reference genomic DNA probe (red) are hybridized to normal metaphase chromosomes. Regions of gain of DNA sequences are seen as an increased green fluorescence intensity, while losses of DNA sequences result in a predominantly red hybridization signal. The metaphases are imaged with fluorescence microscopy, photographed and processed using imaging software. A computer-generated image and a profile of the green/red fluorescence intensity ratio for each chromosome is generated. (Reproduced from reference 2)

阻害)存在下に、これらのプローブを熱変性させ、スライドガラス上の細胞に競合的にハイブリダイズさせる。37℃の湿箱に数日間入れ、洗浄後、4',6'-diamino-2-phenylindole (DAPI)で染色する。

CGH解析：蛍光顕微鏡を用いて白黒冷却型CCDカメラで画像を取り込み、専用ソフトウェア^{5,7)}で解析する。緑色蛍光と赤色蛍光を染色体上の短腕(p)テロメアから長腕(q)テロメア軸に沿って取り込み、緑/赤色蛍光比を求める。この際、バックグラウンドの蛍光はサブトラクションされる。また全染色体上の緑色蛍光と赤色蛍光は1対1になるよう蛍光量が補正、標準化される。各染色体を6以上取り込んだ後、平均緑/赤色蛍光比が算出され、染色体ごとに

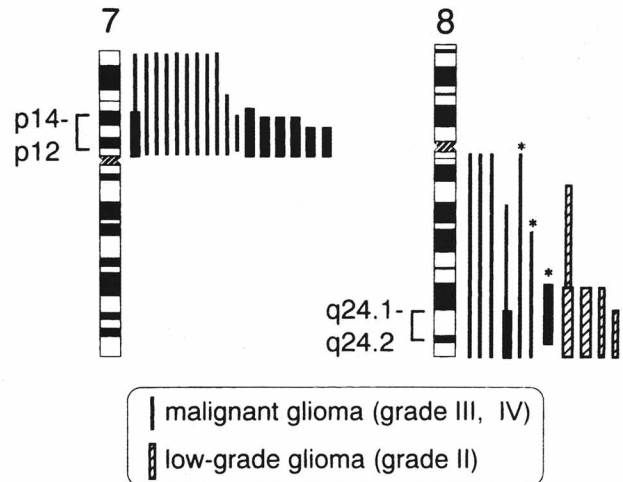


Fig 2 : Chromosomal localization of DNA-sequence copy increases (gain or amplification) detected on 7p and 8q. Thick lines indicate high-level amplification. (*: secondary malignant glioma, +: gain or amplification, -: loss)

profileとして表わされる。染色体の同定はDAPI染色像により行う。DNAコピー数増減の評価としては通常、平均緑/赤色蛍光比が1.2以上をgain, 0.8以下をlossとし、染色体上の一部で1.4以上であった場合をamplificationとする。

グリオーマのCGH解析

悪性グリオーマの中には、初回手術時にすでに悪性と診断される、de novo typeと、分化型グリオーマから次第に悪性度を増す、secondary typeがある。組織学的な違いはないが、前者は後者に比べ、予後不良で⁸⁾、高齢者に多いとされており^{9, 10)}、最近では両者は臨床的に区別して扱われている。悪性グリオーマの腫瘍化や悪性化に、複数の染色体、遺伝子異常が多段階的に蓄積することが大腸癌などと同様、明らかになりつつある。de novo発生の悪性グリオーマでは主にEGFR遺伝子増幅や10番染色体欠失が、またsecondary typeの悪性グリオーマでは17番染色体短腕(以下17p)の欠失やp53遺伝子変異がそれぞれ特徴的な異常とされている^{11, 12)}。しかしながらグリオーマの染色体、遺伝子異常の多くは未だ解明されていない。

過去にグリオーマのCGH解析の報告はあるが¹³⁻¹⁵⁾、

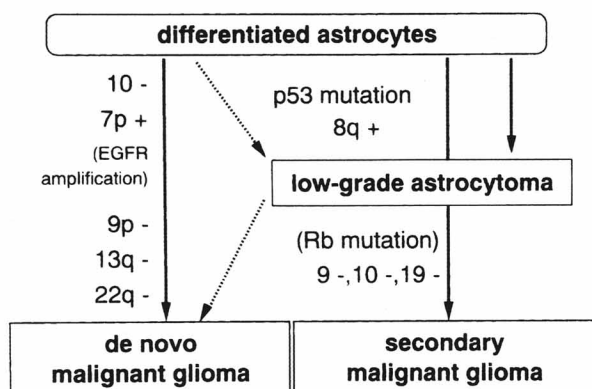


Fig. 3 : Plausible genetic pathway of gliomas. Our results provided evidence for distinct genetic and clinical manifestations in astrocytic tumors with 8q and 7p gain. Low-grade astrocytic tumors with 8q gain may progress to malignant tumors. Dotted lines indicate that some of de novo malignant gliomas diagnosed from clinical manifestations show increase in copy number of 8q.

我々の行ったCGH解析でもいくつか興味深い結果を得た¹⁶⁾。WHO組織分類別(グレードII, III, IV)に異常を検討してみると、組織学的悪性度が高いほどCGH異常数が多く、特にlossに関してこの傾向が強かった。全症例を通じて、9p21, 10p12-p11.2, 10q22-qter, 13q21のlossおよび7p12-p13, 8q24, 20q13.1-q13.2のgainまたはamplificationが高頻度に認められた。これまでのRFLPやfluorescence in situ hybridization (FISH)法による報告^{17,22)}と同様、悪性グリオーマ(グレードIII, IV)では7p13-p12 gainまたはamplificationが高頻度に認められた(Fig. 2)。一方、分化型グリオーマでは8q gainが50%の症例に認められた(Fig. 2)。興味深いことに、7p gainおよび8q gainはそれぞれ、多くのグリオーマで認められたにも関わらず、両者の異常をともに有する症例はなかった。我々はこの事実から、グリオーマの発生と進展の過程において、8q gain症例(以下8q群)と7p gain症例(以下7p群)は異なるpathwayをたどるという仮説をたて、詳細に検討した。

すでに述べたように7p異常は、多くの悪性グリオーマに認められたが、分化型グリオーマでは認められず、悪性グリオーマ特有の変化であった。さらにこの異常は悪性グリオーマの中でもde novo typeに限られており、secondary typeには認められなかつ

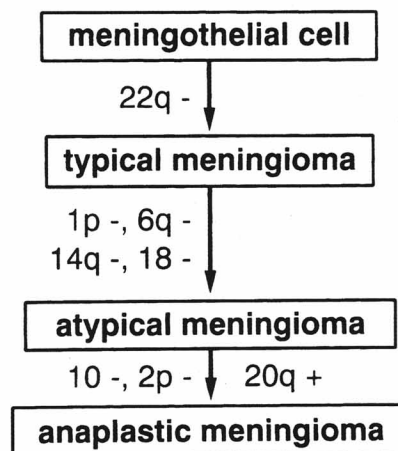


Fig. 4 : Plausible genetic pathway of meningiomas. Typical meningiomas displayed only a few genetic changes such as 22q loss. Losses of 1p, 6q and 14q are frequent in both atypical and anaplastic meningioma. Loss of chromosome 18 is frequent only in atypical meningioma. Losses of chromosome 10 and 2p, and gain of 20q, are frequent only in anaplastic meningioma. (+: gain or amplification, -: loss)

た。7p (p13-p12)にはEGFR遺伝子が存在し、これをコードするEGFR蛋白は腫瘍増殖能に関連し細胞回転を促すとされ、de novo typeの悪性グリオーマではこの過剰発現が多い^{11,23)}。そこでEGFR蛋白発現を免疫組織学的に調べたところ、7p群の57%の症例に過剰発現がみられたが、8q群には認められなかった。

一方、8q異常は前述のごとく分化型グリオーマに多かったが、secondary typeの悪性グリオーマにも4例中3例と高頻度に認められた。また、8q群は7p群に比べ若年者に有意に多く、悪性グリオーマ症例の生存率を比較すると8q群は7p群に比べ予後良好例が有意に多かった。secondary typeの悪性グリオーマではp53遺伝子異常が多いとされる、そこで、p53蛋白の免疫組織学的検討およびp53遺伝子変異(Exon 5-8)をPCR-SSCP法により調べたところ、8q群では7p群に比べp53遺伝子異常が有意に多かった。

以上の結果から、7p gainは真のde novo発生の悪性グリオーマに重要な変化であり、一方8q gainやp53遺伝子異常は分化型から悪性転化を来すsecondary typeの悪性グリオーマに特有な異常であると考えられた。また興味深いことに、臨床経過か

ら明らかにde novo発生であった悪性グリオーマの中の13%の症例に8q異常がみられた。このことは、見かけ上de novo発生とされる症例の中に、8q gainやp53遺伝子異常を示し、緩徐な腫瘍発育傾向を示す症例が存在することを示唆するものであった(Fig. 3)。8番染色体上の共通異常領域は8q24であったが、amplificationはむしろ少なく、11例中7例はgainであった。このようなDNAコピー数の相対的增加の意義は不明である。しかしながら、脳腫瘍以外の固形癌で我々と同様の結果が示されており、膀胱癌で8q gainがp53遺伝子の異常と密接に関係するという報告があり²⁴⁾、8q gainを有する大腸癌は生存率が高いとする報告もある²⁵⁾。

さらに他の染色体異常との連鎖を調べると、7p異常を示す症例はすべて10番染色体の欠失を伴っていた。他の分子生物学的手法でも同様の結果が示されており²⁶⁾、悪性グリオーマにおいて10 lossは7p gainまたはamplificationのbreakthroughとなる異常かもしれない。悪性グリオーマでは10q23領域にputative protein tyrosine phosphataseなどの癌抑制遺伝子の関与が指摘されているが²⁷⁾、我々のCGH解析では、10番染色体の欠失領域は長腕のみならず短腕にも及んでおり、10番染色体上には複数の抑制遺伝子が存在する可能性がある。

我々はさらにその後の研究により、上記仮説を裏付ける興味深い結果を得た²⁸⁾。一般に、悪性過程にある腫瘍では、異なる染色体、遺伝子異常を有する腫瘍細胞集団(subclone)が腫瘍内のclonal expansionにより徐々に優勢となると考えられている。我々は、同一腫瘍内の異なる場所からDNAを採取し、腫瘍内heterogeneityをCGH法により検討した。全ての異常の中で、腫瘍内heterogeneityが最も多かったのは、8q gainであった。このことから8q gainは悪性化に極めて重要な変化であり、この異常を有する細胞集団はclonal expansionを起こしうることがわかった。一方、7p異常の腫瘍内heterogeneityは認められず、この異常はde novo発生悪性グリオーマの発生、進展の過程で比較的早期に起こりうる異常と考えられた。

髄膜腫、下垂体腺腫のCGH解析

頭蓋内に発生する代表的な良性腫瘍としては、髄

膜腫、下垂体腺腫、神経鞘腫があり、これらは全脳腫瘍の過半数近くを占める。上記腫瘍は一般に予後良好であるが、ときに、腫瘍が肉眼的に全摘されていても再発を繰り返し、悪性脳腫瘍と同様の経過を示すこともある。悪性髄膜腫では1p31 lossが悪性化に関わるとされているが^{19, 30)}、悪性型に関与する分子生物学的解析は十分には行われていない。我々は20例の髄膜腫のCGH解析を行った³¹⁾。一般に髄膜腫は組織学的に、benign, atypical, anaplasticに分類されるが³²⁾、Benign meningioma 1症例あたりの平均異常数は1.7で、anaplastic meningiomaでは9.3、atypical meningiomaでは12.7と、グリオーマと同様、組織学的悪性度が高いほど異常の数が多かった。しかしグリオーマと比べると各組織グレード同士の異常は、症例間で多様性が少なく、これは髄膜腫ではグリオーマに比べ、組織学的に腫瘍内heterogeneityが少なく、染色体不安定性に乏しいためと考えられる。benign meningiomaでは22q lossが最も多く、これ以外の異常は少なかった。22qに存在するNF-2遺伝子の欠失・変異は髄膜腫の腫瘍化に関与するとされる^{33, 35)}。Anaplastic meningiomaでは22q lossに加え、1p31 loss, 2q loss, 6q loss, 10 loss, 14q loss, 20q gainがみられ、これらが悪性型に特徴的な変化と考えられた(Fig. 4)。Atypical meningiomaは組織分類上benignとanaplasticの中間型とされているが、その概念には未だ議論が多く、組織診断基準にもあいまいな点が多い。CGH解析上、atypical meningiomaはanaplastic類似の染色体異常を有しており、再発率の高さからも、悪性腫瘍として集学的治療が行われるべきと考える。

下垂体腺腫は臨床的にホルモン産生型と非産生型に大別される。これまでに両者の染色体、遺伝子異常の相違点を表した報告はない。我々は12例の下垂体腺腫(ホルモン産生腺腫と非産生腺腫)のCGH解析を行った³⁶⁾。過去に下垂体腺腫はRB遺伝子の欠失が多いとされているように³⁷⁾、ホルモン産生および非産生腺腫はともに、RB遺伝子の存在する13q14領域の欠失が多かったが、ホルモン産生腺腫は非産生腺腫に比べ染色体異常の数が有意に多かった。同時期に発表されたMetzgerらの論文でも同様の結果が示されている³⁸⁾。ホルモン産生腺腫は各種ホルモン産生に伴う症状が出現するため、比

較的小腫瘍として発見されることが多いが、非産生腺腫の場合、腫瘍は大きくなり視力、視野障害を来して始めて診断される。非産生腺腫は大きいにもかかわらず異常が少ないという事実は、両者が遺伝学的に異なる腫瘍であることを示唆する。

髄芽腫、転移性脳腫瘍のCGH解析

小児後頭蓋窩に発生する髄芽腫は、本邦では症例数が限られており髄芽腫細胞株も継代が難しいため、染色体、遺伝子異常に関する報告は少ない。髄芽腫の放射線、化学療法感受性および患者の予後は症例によって異なり、これらの相違を染色体異常から類推できないか検討した。患者の治療効果を調べるためには、長期経過観察例が望ましく、手術、放射線、化学療法など集学的治療が同様に施行される必要があるため、全例でホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた³⁹⁾。臨床検体のCGH解析は開発当初から凍結標本を用いて行われてきたが、パラフィン包埋標本からも解析が可能となっている³⁴⁾。これによりCGHの解析結果を組織像と詳細に対比でき、患者の予後や治療効果の判定などのretrospective studyを行うことができる。髄芽腫のCGH解析の結果では、7q, 17q gainが最も多く(6例中4例)、次いで2p, 2q, 7p gain(6例中3例)が多かった。核型分析でもisochromosome 17q「i(17q)」に伴う17q gainが最も多く^{40, 43)}、Reardonらの髄芽腫のCGH解析でも17qと7番染色体の異常が最も多い⁴⁴⁾。患者の予後との相関をみると、CGHの異常数の少ない症例は予後良好であり、異常が多数認められた症例では早期死亡例が多かった。以上から髄芽腫の予後には染色体異常の獲得が少なからず関与していると考えられた。天幕上のprimitive neuroectodermal tumor (PNET)と天幕下のPNET(髄芽腫)は組織学的に極めて類似している。従来、両者は異なる腫瘍とされていたが、1993年のWHO組織分類の改正以降、同一腫瘍として取り扱われるようになった³²⁾。しかしながらこの概念には多くの批判がある。最近、CGH法により両者の遺伝学的異常の違いが調べられており、17q gainが、天幕下PNETには認められず天幕下PNETのみにみられるなど、極めて多くの相違があり、両者が生物学的に異なる腫瘍であることが明らかに注目されている⁴⁵⁾。

転移性脳腫瘍は悪性グリオーマ同様、脳腫瘍の中で最も治療が困難とされる。一般に癌の脳転移の機序としては、癌細胞が浮遊し、脳の皮髄境界にある細血管で塞栓子として血管壁を貫通し、脳実質内に着床、増殖するという説が一般的である。脳に転移する癌細胞の染色体、遺伝子変化は、原発巣とどのような違いがあるのか、未だ不明な点が多い。我々はCGH法を応用し、原発巣と転移巣それぞれの腫瘍におけるDNAコピー数の微妙な量的相違(gene dosage abnormality)を検出するための新たな方法を開発した⁴⁶⁾。この方法は、原発巣のDNAと転移巣のDNAを別の蛍光色素で標識しこれらをプローブとしてCGHを行うものである。我々は乳癌における転移巣には18q領域に量的変化が生じることを報告した。

おわりに

これまで述べてきたように、脳腫瘍の臨床像の多様性からも、腫瘍発生、進展に関わるメカニズムの違いを明らかにすることは重要である。化学療法や脳への放射線治療に伴う放射線性壊死や知能、成長障害、骨髄抑制は脳腫瘍患者の治療で極力避けなければならない。脳腫瘍に対する抗腫瘍療法の適応の指標を、病理学的のみならず分子生物学的に行うことで、これらの弊害を最小限に抑えることも可能と思われる。さらに、脳腫瘍をはじめ多くの固形腫瘍は、発見される時点でgenetic instabilityやchromosomal instabilityなど、様々な修飾が加わっているため、真に悪性化に関与する異常を調べることは容易でなく、全ゲノム上の染色体異常を検出するCGH法はスクリーニング法として有用である。またCGH法やFISHなどの細胞遺伝学的手法は、他の分子生物学的手法に比べ、病理所見と直接または間接的に比較できる点でも臨床的有用性が高いと思われる。

CGHやFISHは、染色体、遺伝子の数的異常を検出する方法であり、構造異常の解析を行うものではない。最近開発された細胞遺伝学的手法の一つであるspectral karyotyping (SKY)法は、腫瘍の染色体構造異常を簡便かつ詳細に検出する⁴⁷⁾。CGH法とSKY法を組み合わせることにより、CGHで認められた異常染色体部分の由来を明らかにするなど、詳細

な細胞遺伝学的解析が可能となる。

CGH解析は至適条件の確立やmicrodissection法の導入などにより精度は上がっているが、そのsensitivityにはおのずと限界がある。最近開発されたmicroarray CGH法は次世代のCGH法として注目されている⁴⁸⁾。従来のCGH法によって共通の異常領域として同定された部分を、さらに詳細に高感度で異常領域が特定でき、今後さまざまな腫瘍における細胞遺伝学的解析が進むと思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に御指導、御助言いただきました山口大学名誉教授伊藤治英先生、山口大学医学部病理学第二講座佐々木功典教授、ならびに脳神経外科教室の皆様にご心より深謝申し上げます。

引用文献

- 1) Kallioniemi A, et al.: Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; **258**: 818-821.
- 2) Kallioniemi O-P, et al.: Comparative genomic hybridization: a rapid new method for detecting and mapping DNA amplification in tumors. *seminars in Cancer Biology*, 1993; **4**: 41-46.
- 3) Nishizaki T, et al.: Genetic alterations in lobular breast cancer by comparative genomic hybridization. *Int J Cancer* 1997; **74**: 513-517.
- 4) 西崎隆文, 佐々木功典: CGHの原理と方法 組織培養工学 1997; **23**: 357-361.
- 5) Piper J, et al.: Computer image analysis of comparative genomic hybridization. *Cytometry* 1995; **19**: 10-26.
- 6) du Manoir S, et al.: Detection of complete and partial chromosome gains and losses by comparative genomic in situ hybridization. *Human Genet* 1993; **90**: 590-610.
- 7) 尾崎 聡 他: Comparative genomic hybridization (CGH)のための解析ソフトの開発 山口医学 1996; **45**: 377-383.
- 8) Winger MJ, Macdonald DR, Cairncross JG: Supratentorial anaplastic gliomas in adults. The prognostic importance of extent of resection and prior low-grade glioma. *J Neurosurg* 1989; **71**: 487-493.
- 9) Rey JA, et al.: Chromosomal patterns in human malignant astrocytomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; **29**: 201-221.
- 10) von Deimling A, et al.: Subsets of glioblastoma multiforme defined by molecular genetic analysis. *Brain Pathol* 1993; **3**: 19-26.
- 11) Louis DN, Gusella JF: A tiger behind many doors: multiple genetic pathways to malignant glioma. *Trends in Genet* 1995; **11**: 412-415.
- 12) Fujimoto M, et al.: Loss of heterozygosity on chromosome 10 in human glioblastoma multiforme. *Genomics* 1989; **4**: 210-214.
- 13) Schrock E, et al.: Comparative genomic hybridization of human malignant gliomas reveals multiple amplification sites and nonrandom chromosomal gains and losses. *Am J Pathol* 1994; **144**: 1203-1218.
- 14) Schlegel J, et al.: Detection of complex genetic alterations in human glioblastoma multiforme using comparative genomic hybridization. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; **55**: 81-87.
- 15) Weber RG, et al.: Clinically distinct subgroups of glioblastoma multiforme studied by comparative genomic hybridization. *Lab Invest* 1996; **74**: 108-119.
- 16) Nishizaki T, et al.: Investigation of genetic alterations associated with the grade of astrocytic tumor by comparative genomic hybridization. *Genes, Chromosomes Cancer* 1998; **21**: 340-346.
- 17) Fults D, et al.: Allelotype of human malignant astrocytoma. *Cancer Res* 1990; **50**: 5784-5789.
- 18) Watanabe K, et al.: Loss of constitutional heterozygosity in chromosome 10 in human glioblastoma. *Acta Neuropathol* 1990; **80**: 251-254.
- 19) James CD, et al.: Chromosome 9 deletion mapping reveals interferon alpha and interferon beta-1 gene deletions in human glial tumors. *Cancer Res* 1991; **51**: 1684-1688.
- 20) Venter DJ, Thomas DG: Multiple sequential

- molecular abnormalities in the evolution of human gliomas. *Br J Cancer* 1992; **63**: 753-757.
- 21) Dalrymple SJ, et al.: Use of fluorescence in situ hybridization to detect loss of chromosome 10 in astrocytomas. *J Neurosurg* 1995; **83**: 316-323.
 - 22) James CD, et al.: Chromosome 9 deletion mapping reveals interferon alpha and interferon beta-1 gene deletions in human glial tumors. *Cancer Res* 1991; **51**: 1684-1688.
 - 23) Kleihues P, et al.: Histopathology, classification, and grading of gliomas. *Glia* 1995; **15**: 211-221.
 - 24) Sauter G, et al.: c-myc copy number gains in bladder cancer detected by fluorescence in situ hybridization. *Am J Path* 1995; **146**: 1131-1139.
 - 25) Augenlicht LH, et al.: Low-level c-myc amplification in human colonic carcinoma cell lines and tumors: a frequent, p53-independent mutation associated with improved outcome in a randomized multi-institutional trial. *Cancer Res* 1997; **57**: 1769-1775.
 - 26) von Deimling A, et al.: Association of epidermal growth factor receptor gene amplification with loss of chromosome 10 in human glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 1992; **77**: 295-301.
 - 27) Li J, et al.: TPEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; **275**: 1943-1947.
 - 28) Harada K, et al.: Intratumoral cytogenetic heterogeneity detected by comparative genomic hybridization and laser scanning cytometry in human gliomas. *Cancer Res* 1998; **58**: 4694-4700.
 - 29) Bello MJ, et al.: Allelic loss at 1p is associated with tumor progression of meningiomas. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; **9**: 296-298.
 - 30) Lindblom A, et al.: Chromosomal deletions in anaplastic meningiomas suggest multiple regions outside chromosome 22 as important in tumor progression. *Int J Cancer* 1994; **56**: 354-357.
 - 31) Ozaki S, et al.: Comparative genomic hybridization analysis of genetic alterations associated with malignant progression of meningioma. *J Neurooncol* 1999; **41**: 167-174.
 - 32) Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW: The new WHO classification of brain tumors. *Brain Pathol* 1993; **3**: 255-268.
 - 33) Dumanski JP, et al.: Molecular genetic analysis of chromosome 22 in 81 cases of meningioma. *Cancer Res* 1990; **50**: 5863-5867.
 - 34) Lekan DR, et al.: Cloning and characterization of MN1, a gene from chromosome 22q11, which is disrupted by a balanced translocation in a meningioma. *Oncogene* 1995; **10**: 1521-1528.
 - 35) Papi L, et al.: Somatic mutations in the neurofibromatosis type 2 gene in sporadic meningiomas. *Hum Genet* 1995; **95**: 347-351.
 - 36) Harada K, et al.: Cytogenetic alterations in pituitary adenomas detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogen* 1999; **112**: 38-41.
 - 37) Pei L, et al.: Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma susceptibility gene (RB) locus in aggressive pituitary tumors: Evidence for chromosome 13 tumor suppressor gene other than RB. *Cancer Res* 1995; **55**: 1613-1616.
 - 38) Metzger AK, et al.: Multiple genetic aberrations including evidence of chromosome 11q13 rearrangement detected in pituitary adenomas by comparative genomic hybridization. *J Neurosurg* 1999; **90**: 306-314.
 - 39) Nishizaki T, et al.: Genetic alterations in pediatric medulloblastomas detected by comparative genomic hybridization. *Pediatr Neurosurg* (in press)
 - 40) Biegel JA, et al.: Isochromosome 17q in primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. *Genes, Chromosomes Cancer* 1989; **1**: 139-147.
 - 41) Bigner SH, et al.: Structural chromosomal abnormalities in human medulloblastoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; **30**: 91-101.
 - 42) Callen DF, Cirocco L, Moore L: A der(11)t(8;11) in two medulloblastomas. A possible nonrandom cytogenetic abnormality. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; **38**: 255-260.
 - 43) Griffin CA, et al.: Chromosome abnormalities in pediatric brain tumors. *Cancer Res* 1988; **48**: 175-180.

- 44) Reardon DA, et al.: Extensive genomic abnormalities in childhood medulloblastoma by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 1997; **57**: 4042-4047.
- 45) Russo C, et al.: Comparative genomic hybridization in patients with supratentorial and infratentorial primitive neuroectodermal tumors. *Cancer* 1999; **86**: 331-339.
- 46) Nishizaki T, et al.: Genetic alterations in primary breast cancers and their metastases: Direct comparison using modified comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; **19**: 267-272.
- 47) Schock E, et al.: Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 1996; **273**: 494-497.
- 48) Pinkel D, et al.: High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nature Genet* 1998; **20**: 207-211.

Investigation of Genetic Alterations in Brain Tumors by CGH

Takafumi NISHIZAKI

*Department of Neurosurgery, Yamaguchi University School of Medicine,
1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan*

SUMMARY

Comparative genomic hybridization (CGH) is a technique which allows the detection of losses and gains in DNA copy number along the entire genome. CGH was used to study the genetic alterations in brain tumors. While 7p gain occurred exclusively in cases with the loss of all or part of chromosome 10, this change never occurred in cases having an increase in copy of 8q, which was the most frequent change observed in low-grade astrocytoma. Astrocytic tumors with 8q gain occurred more frequently in younger patients than those with 7p gain. Our results provided evidence for distinct clinical manifestations in astrocytic tumors with 8q and 7p gain. While typical meningiomas frequently displayed 22q loss, losses of 1p, 2p, 6q, chromosome 10 and 14q, and gain of 20q were genetic changes implicated in the malignant progression of meningioma. While the most frequent aberration was loss of 13q with a minimal common overlapping region at 13q14 in pituitary adenomas, our results revealed that the mean number of sites of copy gain was significantly higher in functioning adenomas than in non-functioning tumors. Further acquisition of genetic alterations were associated with unfavorable prognosis in patients with medulloblastomas. In this article, we discussed genetic alterations in brain tumors detected by CGH.

(Genes, Chromosomes Cancer 21:340-346,1998)