

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10303

研究課題名(和文) グリオーマのBevacizumab治療における血管新生因子CYR61の発現影響

研究課題名(英文) The analysis of the relationship between the expression of CYR61 and the resistance of bevacizumab

研究代表者

杉生 憲志 (SUGIU, Kenji)

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40325105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：原発性脳腫瘍においてグリオーマは約30%を占める。CYR61は脳腫瘍の血管新生や増殖に関連しているとされ、脳腫瘍の悪性度に関与している。我々はCYR61の発現と抗VEGF抗体bevacizumabの治療抵抗性について検討した。CYR61は予後陰性因子マーカーであった。CYR61を強発現または抑制することで、bevacizumab処理時にグリオーマ細胞に対して影響があたえられるかについて検討した。またCYR61とgermline variantについての検討を行いPIK3R1のgermline mutationがCYR61と予後とに相関することがわかった。

研究成果の概要(英文)：Gliomas are one of the most common primary brain tumor, at 30%. CYR61 play an important role in tumor progression, angiogenesis, and invasion for brain tumor. We investigated the relationship between the expression of CYR61 and the resistance of Anti-VEGF antibody, bevacizumab. Our study demonstrated that median progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) of patients with high CYR61 expression was significantly shorter than that of patients with low CYR61 expression. In vitro, we evaluated the effect of bevacizumab for CYR61 overexpressed or low expressed cells. The PIK3R1Met326Ile germline appeared to be correlated with CYR61 expression and poor prognosis in glioblastoma.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：グリオーマ bevacizumab CYR61 IDH1

1. 研究開始当初の背景

悪性グリオーマは原発性脳腫瘍の中で、最も頻度の高い腫瘍である。手術療法、化学療法、放射線療法を併用しても予後は極めて不良である。近年、悪性グリオーマに対する治療として、様々な新しい治療法が試みられているが、中でも分子標的治療は近年注目を集めている。

2013年6月から本邦で bevacizumab が悪性神経膠腫に対する治療薬として認可され、新規血管新生抑制剤の使用が開始された。しかし、血管新生抑制により治療効果をもたらさず一方で、腫瘍細胞の浸潤が誘発されることが近年報告されている。また、我々の研究結果においても同様な現象が認められた。

初発膠芽腫に対し、標準治療である放射線療法とテモゾロミド (TMZ) の併用療法に bevacizumab を追加する世界規模の第 III 相無作為化二重盲検プラセボ比較試験 AVAglio と、テキサス州立大学 MD アンダーソン・がんセンターによる、国内多施設共同第 III 相臨床試験 RTOG 0825 が行われたが、いずれの試験も、プラセボとの比較で、bevacizumab 投与により無増悪生存期間は延長するが、全生存期間では有意な延長は認められないというほぼ一致した結果となった。

我々はオハイオ州立大学脳神経外科において、腫瘍溶解ウイルス(OV)をより効果的な治療戦略とするため悪性グリオーマに対する腫瘍溶解ヘルペスウイルス(HSV)、または、アデノウイルスを用いた宿主の間葉系システムにおける反応、腫瘍のマイクロエンバイロメント、さらには、腫瘍血管の変化について調べてきた。ラット脳腫瘍モデルにおいて OV-HSV-1 感染後に血管透過性の亢進を認め、その原因を探るべく、我々のラボでは OV 療法における腫瘍から分泌されるアンジオトームについての変化に関する研究を行ってきたところ、cysteine-rich protein 61 (CYR61)の発現が有意に増加しているのを発見した。CYR61 (cysteine-rich protein 61)は脳腫瘍の血管新生や増殖に関連しているとされ、その発現上昇によりインテグリンとの autocrine loop が活性化するといわれている。CYR61 は膠芽腫の臨床検体においては 68% (27/40)、また、グリオーマの細胞系列においても強発現している細胞外膜における分泌型ヘパリン結合蛋白である。この発現は乳癌患者やグリオーマ患者の予後における、陰性因子としてのマーカーと考えられており、当施設においても同様な結果が得られている。

今回我々は、Bevacizumab 投与下でのグリオーマ細胞、症例を対象に CYR61 の発現解析を行い、CYR61 発現と bevacizumab の治療抵抗性について検討を行った。

2. 研究の目的

研究目的 1: ヒトグリオーマ細胞株と primary human glioma-derived (PHGD)

cell を用い、bevacizumab 投与下において CYR61 の発現の有無を調べる。

研究目的 2: bevacizumab 療法が施行されたグリオーマ症例を対象とし、CYR61 の発現変化を調べる。

研究目的 3: bevacizumab 療法における CYR61 の役割を調べ、バイオマーカーとしての可能性を探る。

3. 研究の方法

平成 27 年度の計画 1)CYR61 プラスミド、shRNA、CYR61 抗体、CYR61 蛋白、Bevacizumab に関して本研究のセットアップを行う。2)Bevacizumab 存在下におけるヒトグリオーマ細胞株と primary human glioma-derived (PHGD) cell を用い、QPCR で CYR61 の発現の有無を調べる。

平成 28 年度の計画 1)グリオーマ症例を対象とし、組織標本を抗 CYR61 抗体にて免疫組織染色を行い Bevacizumab 治療におけるバイオマーカーとしての可能性を探る。2)Bevacizumab 治療患者において分泌蛋白 CYR61 と他の予後因子との関係 (MGMT など) との予後との関連性を調べる。

平成 29 年度の計画 1)In vitro において、CYR61 を遺伝子導入により強発現または抑制することで、または、分泌蛋白 CYR61 を用いることで、Bevacizumab 投与時に、グリオーマ細胞株、PHGD cell に対してどのような影響があたえられるかについて検討する。2)In vivo において、CYR61 を遺伝子導入により強発現または抑制させたグリオーマ細胞株、human glioma derived cells を用いた動物モデルに対し Bevacizumab を投与した時にどのように影響するかについて検討する。3)統計学的データ解析を行い、学会発表・論文投稿する。

4. 研究成果

CYR61 プラスミド、shRNA、CYR61 抗体、CYR61 蛋白、bevacizumab などに関して本研究のセットアップを行った。CYR61 の発現について、グリオーマ患者の予後における、陰性因子としてのマーカーと考えられており、当施設においても同様な結果が得られた。グリオーマ細胞株を用いて、分泌蛋白 CYR61 の発現における bevacizumab 治療の反応性を調べた。Bevacizumab 治療患者における分泌蛋白 CYR61 と、MGMT、IDH1 などとの予後との関連性を調べた。

グリオーマ細胞株を用いて、分泌蛋白 CYR61 の発現における bevacizumab 治療の反応性を調べた。患者サンプルから樹立した腫瘍細胞である human glioma derived cells を用いて分泌蛋白 CYR61 の発現を調べた。In vitro において、CYR61 を遺伝子導入により強発現または抑制することで、bevacizumab 処理時に、グリオーマ細胞株、human glioma derived cells に対してどのような影響があたえられるかについて検討し

た。また、CYR61 と germline variant についての検討を行い PIK3R1 の germline mutation が CYR61 と予後とに相関することがわかった。統計学的データ解析を行い、学会発表・論文投稿した。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

1. NADH fluorescence imaging and the histological impact of cortical spreading depolarization during the acute phase of subarachnoid hemorrhage in rats, Shimizu T, Hishikawa T, Nishihiro S, Shinji Y, Takasugi Y, Haruma J, Hiramatsu M, Kawase H, Sato S, Mizoue R, Takeda Y, Sugiu K, Morimatsu H, Date I, Journal of Neurosurgery, 128(1),137-143,2018
DOI: 10.3171/2016.9.JNS161385 (査読有)
2. 硬膜動静脈瘻—動脈・静脈の疾患(臓器別): 脳血管疾患— 菱川朋人、杉生憲志、伊達 勲, 日本臨床 増刊号 動脈・静脈の疾患 下, 75(Suppl5),715-718,2017 (査読有)
3. 急性期脳梗塞の血管内治療最前線, 杉生憲志、平松匡文、菱川朋人、伊達 勲 日本内科学会誌,106(8),1646-1651,2017 (査読有)
4. LVIS & LVIS Jr stent 杉生憲志 Rad Fan 15(12): 72-74, 2017 (査読有)
5. Transient middle cerebral artery occlusion model in the macaca fuscata using a novel intravascular technique Okuma Y, Liu K, Hishikawa T, Hirotsune N, Sugiu K, Nishino S, Nishibori M, Date I Journal of Neuroendovascular Therapy 10(3): 121-126, 2016 (査読有)
6. Moyamoya disease: a review of clinical

research Hishikawa T, Sugiu K, Date I Acta Medica Okayama 70(4):

229-236, 2016 (査読有)

7. Combined gene therapy with vascular endothelial growth factor plus apelin in a chronic cerebral hypoperfusion model in rats Hiramatsu M, Hishikawa T, Tokunaga K, Kidoya H, Nishihiro S, Haruma J, Shimizu T, Takasugi Y, Shinji Y, Sugiu K, Takakura N, Date I Journal of Neurosurgery December 23, 2016: DOI: 10.3171/2016.8.JNS16366, 2016 (査読有)
8. 急速に発展する急性期脳高速への血管内治療 春間 純、杉生憲志 medicina 53(2): 284-288, 2016 (査読有)

[学会発表](計 15 件)

1. 第33回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会,東京(グランドプリンスホテル新高輪),2017.11.25,顔面頭頸部動静脈奇形・血管腫に対する血管内治療,杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、木谷尚哉、高橋 悠、村井 智、伊達 勲
2. 第33回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会,東京(グランドプリンスホテル新高輪),2017.11.25,椎骨動脈解離性動脈瘤に対する血管内治療(シンポジウム),木谷尚哉、杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、高橋 悠、村井 智、伊達 勲
3. 第33回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会,東京(グランドプリンスホテル新高輪),2017.11.24,後方循環の症候性未破裂脳動脈瘤に対する血管内治療の長期成績,高橋 悠、杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、木谷尚哉、村井 智、伊達 勲
4. 第33回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会,東京(グランドプリンスホ

- テル新高輪),2017.11.23,頭蓋内腫瘍に対する術前塞栓術の治療成績,西廣真吾、杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、木谷尚哉、高橋 悠、村井 智、伊達 勲
5. (一社)日本脳神経外科学会第76回学術総会,名古屋(名古屋国際会議場),2017.10.12,大型・巨大脳動脈瘤に対する治療—直達術と血管内治療を駆使して—,杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、木谷尚哉、高橋 悠、村井 智、伊達 勲
 6. (一社)日本脳神経外科学会第76回学術総会,名古屋(名古屋国際会議場),2017.10.12,Persistent primitive trigeminal arteryが関連した未破裂脳動脈瘤3例の治療経験,村井 智、杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、木谷尚哉、高橋 悠、伊達 勲
 7. 第20回日本臨床脳神経外科学会,広島(広島国際会議場),2017.07.16,脳動脈瘤血管内治療最新の話(シンポジウム),杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、木谷尚哉、高橋 悠、村井 智、伊達 勲
 8. 第4回日本心血管脳卒中学会学術集会,福岡(アクロス福岡),2017.06.02,鎖骨下動脈及び腕頭動脈狭窄・閉塞症に対する血管内治療(シンポジウム),高橋 悠、杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、西廣真吾、木谷尚哉、伊達 勲
 9. 第37回日本脳神経外科コンgres総会,横浜(パシフィコ横浜),2017.05.11,脳動脈瘤に対する血管内治療(ビデオ教育セミナー),杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、伊達 勲
 10. 第32回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会,神戸(神戸国際展示場),2016.11.24,脳血管疾患の治療戦略—脳血管内治療と脂質低下療法—(アフタヌーンセミナー),杉生憲志
 11. (一社)日本脳神経外科学会第75回学術総会,福岡(福岡国際会議場),2016.09.29,大型・巨大脳動脈瘤に対する治療—開頭術と血管内治療を駆使して—(シンポジウム),杉生憲志、高杉祐二、菱川朋人、平松匡文、春間 純、西廣真吾、新治有径、木谷尚哉、高橋 悠、伊達 勲
 12. 8thEuropean-Japanese Cerebrovascular Congress,Zurich,Switzerland,2016.06.22,Endovascular treatment for cerebral aneurysms in Japan, Sugiu K, Hishikawa T, Hiramatsu M, Haruma J, Takasugi Y, Nishihiro S, Shinji Y, Kidani N, Takahashi Y, Yonezawa S, Date I
 13. 第45回日本脳卒中の外科学会学術集会:STROKE 2016,札幌(ロイトン札幌),2016.04.15,3DDSA-MRI fusion画像の有用性(シンポジウム),平松匡文、杉生憲志、菱川朋人、春間 純、高杉祐二、西廣真吾、新治有径、黒住和彦、伊達 勲
 14. 第25回脳神経外科手術と機器学会,新潟(朱鷺メッセ),2016.03.26,硬膜動静脈瘻に対する経動脈的 ONYX 塞栓術(シンポジウム),杉生憲志、春間 純、菱川朋人、平松匡文、高杉祐二、新治有径、西廣真吾、伊達 勲
 15. (一社)日本脳神経外科学会第74回学術総会,札幌(ロイトン札幌),2015.10.14,血栓化動脈瘤に対する血管内治療,杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、春間 純、高杉祐二、西廣真吾、新治有径、伊達 勲
- 〔図書〕(計 3件)
1. 杉生憲志、新NS NOW No.10 脳動静脈奇形治療のこれまでとこれから—脳神経外科のエベレスト登山—、メジカルビュー社、東京、2017、PP56-69(総197)
 2. 杉生憲志、日本医師会雑誌 第146巻・特別号(1) 脳血管障害診療のエッセンス

—障害教育シリーズ 92—、東京、2017、
PP184-187 (総346)

3. 杉生憲志、脳血管内治療の進歩 2017 基礎から最新知見まで—脳血管内治療ブラッシュアップセミナー2016—、東京、2016、PP148-151 (総数 202)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

杉生 憲志 (SUGIU, Kenji)
岡山大学・大学病院・准教授
研究者番号：40325105

(2)研究分担者

黒住 和彦 (KUROZUMI, Kazuhiko)
岡山大学・大学病院・講師
研究者番号：20509608

(3)連携研究者

伊達 勲 (DATE, Isao)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：70236785

以上