

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10870

研究課題名(和文) 脳原発悪性リンパ腫における上皮 間葉転換誘導因子の解析に基づく診断と治療への展開

研究課題名(英文) Development of the novel diagnostic and treatment strategies targeting at Epithelial to mesenchymal transition related transcription factors in primary central nervous system lymphomas

研究代表者

牧野 敬史(MAKINO, KEISHI)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：90381011

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：脳原発悪性リンパ腫組織において、がん細胞の転移や浸潤を促進する上皮間葉転換関連誘導因子(EMT: Epithelial-mesenchymal transition related transcriptional factors)であるZEB1とSlugは高発現を認め、腫瘍の多発性と有意な相関があった。さらに活性型Slugの発現は、予後不良と関連していた。また細胞死の抑制に関連するBCL2の発現も予後と関連性があった。以上の結果より、SlugとBCL2の発現は予後因子として考慮すべき結果であり、脳原発悪性リンパ腫における新たな治療標的分子となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳原発悪性リンパ腫は、近年免疫抑制患者以外の一般人口においても急激な発生増加が認められ、注目を集めている。臨床的な特徴としては、比較的高齢者に発生する傾向にある、急速に症状が進行する、頭蓋内の数カ所に同時に多発する例もある、高度の認知機能障害を生じるなどが挙げられる。予後や治療反応性を予測できるバイオマーカーの確立は、個別化した最適な治療を計画するうえで重要である。本研究の結果から、上皮 間葉転換誘導因子(Slug)の発現は、予後、腫瘍の多発性と関連しており、また細胞死の抑制に関連するBCL2の発現も予後に関連していたので、脳原発悪性リンパ腫において有力なバイオマーカー候補と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Histological and immunohistochemical testing were performed to evaluate the patients' statuses for various markers {Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) related transcription factors (ZEB1 and Slug), MYC and BCL2}, which were also evaluated for associations with survival outcomes in primary central nervous system lymphoma (PCNSL). Higher expression of ZEB1 and Slug was found in the cases with CNS lymphomas. These expressions were significantly shown in case with multiple tumors. Furthermore, positivity of active form of Slug was associated with both poor overall and progression-free survival. Additionally, BCL2 positivity was significantly associated with poor overall survival and progression-free survival. These data suggested that evaluating Slug and BCL2 might help predict the prognosis in cases of PCNSL. Furthermore, these molecules might be novel therapeutic targets.

研究分野：脳神経外科学、脳腫瘍学

キーワード：脳原発悪性リンパ腫 治療抵抗性 転移、浸潤能 治療標的分子

1. 研究開始当初の背景

脳原発悪性リンパ腫は、近年免疫抑制患者以外の一般人口においても急激な発生増加が認められ、注目を集めている。臨床的な特徴としては、(1)比較的高齢者に発生する傾向にある、(2)急速に症状が進行する、(3)頭蓋内の数カ所に同時に多発する例もある、(4)高度の認知機能障害を生じるなどが挙げられる。さらに病理学的な特徴としては、(1)脳表や脳室に接した領域に発生する、(2)血管周囲腔に浸潤することが多い、(3)剖検脳の解析から、MRI等の画像で見られる範囲より広範囲の脳実質に腫瘍細胞が浸潤していることなどがある。

上皮-間葉転換 (EMT: Epithelial-mesenchymal transition) とは、上皮細胞が細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走、浸潤能を得て間葉系様の細胞へと変化する過程である。正常組織では、発生や創傷治癒などに重要な役割を果たしている。がん細胞では上皮-間葉転換誘導因子が活性化され、(1)転移・浸潤の促進、(2)治療抵抗性の獲得、(3)腫瘍形成能の増大に関与していることなどが明らかになり、近年様々な腫瘍において EMT 関連分子の発現や役割の解析が進められている。

2. 研究の目的

悪性脳腫瘍である脳原発悪性リンパ腫の治療成績は、初期治療として大量メソトレキセート療法と放射線治療の併用療法を行うことで生存期間の延長が得られるようになってきた。しかしながら初期治療に抵抗性がある症例も存在し、それらの症例では予後不良である。さらに治療後に脳内病変は寛解の状態でも、中枢神経系外の組織に転移して再発する症例も存在する。

また、腫瘍細胞が脳深部まで浸潤性に存在するので、高度の認知機能障害を生じることも多く治療後でも自立した生活が送れないなどの問題がある。

本研究では、脳原発悪性リンパ腫が持つ転移・浸潤能、治療抵抗性の獲得に関する機序を解明することで、有効な診断法および治療法の開発に展開することを目的とした。

3. 研究の方法

(1): 上皮間葉転換関連分子の発現解析

上皮間葉転換 (EMT: Epithelial-mesenchymal transition) が、がん細胞の転移や浸潤および増殖などを促進することがわかってきたので、近年、様々な腫瘍において、EMT 関連分子の発現や役割の解析が進められている。脳原発悪性リンパ腫組織において、EMT 関連転写因子である ZEB1 と Slug の発現を解析し、治療成績、腫瘍の多発性、EMT 制御因子およびリンパ腫細胞起源との関連を検討した。

(2): MYC および BCL2 の発現解析

全身性 B 細胞性リンパ腫において、細胞の増殖に関連する分子 MYC および細胞死の抑制に関連する分子 BCL2 の遺伝子異常やタンパク高発現が生命予後に関与することが分かってきた。そこで脳原発悪性リンパ腫の臨床サンプルを用いて、MYC および BCL2 の発現を、それぞれの分子の抗体を使った免疫組織染色を行い解析し、治療成績との関連を検討した。

4. 研究成果

(1) 上皮間葉転換関連分子の発現解析

当科にて生検術を施行し、B 細胞性リンパ腫と診断後、大量メソトレキセート療法および放射線照射にて治療した PCNSL76 例を対象とした。抗 ZEB1 および抗 Slug 抗体にて免疫染色を行い、組織内の 20%以上の細胞に発現を示す場合を陽性と評価し、全生存期間 (OS: overall survival) と無増悪生存期間 (PFS: progression free survival) を比較した。また腫瘍の多発性、リンパ腫細胞起源 (germinal center, non-germinal center) との関連も比較した。免疫染色の結果、ZEB1 の発現は 55 例 (72.4%) が陽性であり、Slug の発現は 56 例 (73.7%) が核内 (図 1) に、20 例 (26.3%) が細胞質に陽性であった。治療成績の解析では、ZEB1 の発現は OS、PFS とともに差はなかったが、Slug に関しては細胞質陽性群が、OS ($p=0.0265$)、PFS ($p=0.0034$) 共に有意に延長していた (図 2)。また多発例では、ZEB1 陽性 ($p=0.0459$) および Slug 核内陽性 ($p=0.0197$) の割合が高かった。さらにリンパ腫細胞起源における両者の発現を比較したが、有意差は認めなかった。脳原発悪性リンパ腫組織においても、EMT 関連分子は高発現がみられ、腫瘍の多発性と関連があり、Slug の核内発現は予後不良と関連していた。これらの結果から、脳原発悪性リンパ腫において上皮間葉転換の関与が示唆された。

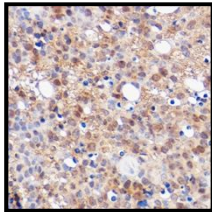


図 1 : Slug 核内発現例

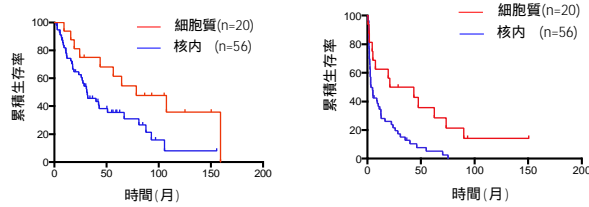


図 2 : Slug 発現による全生存期間 (左) と無増悪生存期間 (右) の比較

(2) MYC および BCL2 の発現解析

当科にて生検術を施行し PCNSL と診断後、大量メソトレキセート療法および放射線照射にて治療した 79 例を対象とした。抗 MYC および抗 BCL2 抗体を用いて免疫染色を行い、MYC は組織内の腫瘍細胞の 40%以上、BCL2 は 70%以上に発現があった場合を陽性と評価した(図 3)。さらにそれぞれの発現に関して、全生存期間(OS: overall survival)と無増悪生存期間(PFS: progression free survival)を比較した。免疫染色の結果、MYC の発現は 41 例(51.9%)、BCL2 の発現は 34 例(43.0%)にみられ、両者の共発現は 23 例(29.1%)にあった。分子発現と治療成績の解析では、MYC の発現は OS(陽性 31.3、陰性 56.6 ヶ月 : $p=0.391$)、PFS(陽性 4.8、陰性 12.7 ヶ月 : $p=0.184$)ともには差は無かった。一方、BCL2 の発現は OS(陽性 31.8、陰性 78.7 ヶ月 : $p=0.021$)、PFS(陽性 5.2、陰性 7.6 ヶ月 : $p=0.042$)であり、ともに有意差を認めた(図 4)。共発現に関しては、OS(陽性 31.3、陰性 51.1 ヶ月 : $p=0.095$)、PFS(陽性 5.1、陰性 7.6 ヶ月 : $p=0.029$)となり、PFS のみ有意差があった。脳原発リンパ腫組織においても、MYC および BCL2 の発現は予後と関連性があり、今後は予後因子として考慮すべき結果であり、新たな治療標的分子となる可能性が示唆された。

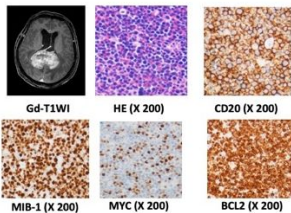


図 3 : 免疫組織染色結果

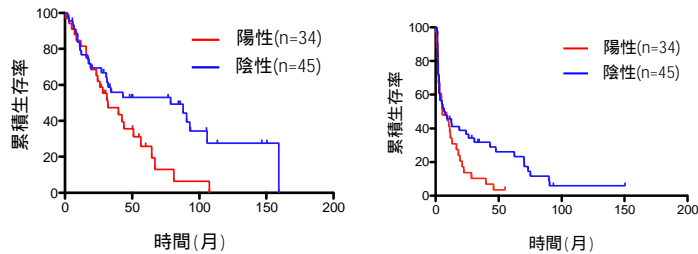


図 4 : BCL2 発現による全生存期間 (左) と無増悪生存期間 (右) の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kuriyama H, Kajihara I, Kanemaru H, Nishimura Y, Igata T, Masuguchi S, Imaoka Y, Makino K, Ihn H	4. 巻 13
2. 論文標題 Brain abscess in an angiosarcoma patient during a disease-free interval.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Discoveries & Therapeutics	6. 最初と最後の頁 175-176
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5582/ddt.2019.01042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Makino K, Nakamura H, Shinojima N, Kuroda JI, Yano S, Mikami Y, Mukasa A	4. 巻 140
2. 論文標題 BCL2 expression is associated with a poor prognosis independent of cellular origin in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of neuro-oncology	6. 最初と最後の頁 115, 121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11060-018-2940-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nakagawa M, Nakaura T, Namimoto T, Kitajima M, Uetani H, Tateishi M, Oda S, Utsunomiya D, Makino K, Nakamura H, Mukasa A, Hirai T, Yamashita Y	4. 巻 108
2. 論文標題 Machine learning based on multi-parametric magnetic resonance imaging to differentiate glioblastoma multiforme from primary cerebral nervous system lymphoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European journal of radiology	6. 最初と最後の頁 147, 154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejrad.2018.09.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Mizutani H, Nakane S, Ikeda T, Nakamura H, Takamatsu K, Makino K, Tawara N, Mukaino A, Watari M, Matsui H, Mukasa A, Ando Y	4. 巻 5
2. 論文標題 CSF TACI and BAFF levels in patients with primary CNS lymphoma as novel diagnostic biomarkers.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of clinical and translational neurology	6. 最初と最後の頁 1611, 1616
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/acn3.668	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fukuoka K, Kanemura Y, Makino K(26番目) et al.	4. 巻 6
2. 論文標題 Significance of molecular classification of ependymomas: C11orf95-RELA fusion-negative supratentorial ependymomas are a heterogeneous group of tumors.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta neuropathologica communications	6. 最初と最後の頁 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-018-0630-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi N, Takahashi H, Hasegawa Y, Higuchi F, Takahashi M, Makino K, Takagaki M, Akimoto J, Okuda T, Okita Y, Mitsuya K, Hirashima Y, Narita Y, Nakasu Y	4. 巻 17
2. 論文標題 A nationwide multi-institutional retrospective study to identify prognostic factors and develop a graded prognostic assessment system for patients with brain metastases from uterine corpus and cervical cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-017-3358-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Y, Sawada T, Akahane T, Kawase Y, Ikeda H, Makino K, Nakamura H, Hide T, Yano S, Hashimoto N, Kamada H.	4. 巻 14
2. 論文標題 Monocyte chemoattractant protein 1 expression and proliferation in primary central nervous system lymphoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncol Lett.	6. 最初と最後の頁 264,270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.6122.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kadota Y, Hirai T, Nakamura H, Makino K, Yano S, Nishimura S, Tateishi M, Azuma M, Kitajima M, Yamashita Y	4. 巻 16
2. 論文標題 Benefit of 3T Diffusion-weighted Imaging in Comparison to Contrast-enhanced MR Imaging for the Evaluation of Disseminated Lesions in Primary Malignant Brain Tumors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Magn Reson Med Sci.	6. 最初と最後の頁 217,222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2463/mrms.mp.2016-0072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uetani H, Hirai T, Kitajima M, Azuma M, Yano S, Nakamura H, Makino K, Kai Y, Nagayama Y, Kadota Y, Yamashita Y	4. 巻 -
2. 論文標題 Additive Value of 3T 3D CISS Imaging to Conventional MRI for Assessing the Abnormal Vessels of Spinal Dural Arteriovenous Fistulae.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Magn Reson Med Sci	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2463/mrms.mp.2016-0098	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Keishi Makino, Jun-ichiro Kuroda, Akitake Mukasa
2. 発表標題 Evaluation of Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) -related transcription factors in pediatric ependymomas
3. 学会等名 3rd congress of Asian Australasian Society for Pediatric Neurosurgery (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧野敬史、黒田順一郎、篠島直樹、武笠晃丈
2. 発表標題 上衣腫に対する治療成績の解析と今後の課題
3. 学会等名 第47回日本小児神経外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧野敬史、黒田順一郎、篠島直樹、高田明、武笠晃丈
2. 発表標題 小児上衣腫に対する治療成績と新規治療標的としての上皮 間葉転換関連転写因子の発現解析
3. 学会等名 社団法人日本脳神経外科学会 第78回学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keishi Makino, Yushin Takemoto, Akitake Mukasa
2. 発表標題 BCL2 expression is associated with a poor prognosis independent of cellular origin in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma
3. 学会等名 15th KYUSHU and YOUNG-HONAM Neurosurgical Joint Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牧野敬史、黒田順一郎、武笠晃丈
2. 発表標題 小児症候性キアリ1型奇形に対する治療成績の成人例との比較検討
3. 学会等名 第46回日本小児神経外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牧野敬史、篠島直樹、黒田順一郎、矢野茂敏、三上芳喜、武笠晃丈
2. 発表標題 中枢神経系原発リンパ腫における予後因子としてのcell of origin とMYC、BCL2の発現解析
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牧野敬史、上谷浩之、篠島直樹、黒田順一郎、北島美香、武笠晃丈
2. 発表標題 MR灌流画像を用いた中枢神経系原発悪性リンパ腫に対するメソトレキセート療法の効果予測の試み
3. 学会等名 社団法人日本脳神経外科学会 第77回学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牧野敬史、篠島直樹、黒田順一郎、竹崎達也、武笠晃丈
2. 発表標題 脳原発悪性リンパ腫における上皮間葉転換関連転写因子ZEB1およびSlugの役割の検討
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Keishi Makino, Hideo Nakamura, Taku-ichiro Hide, Naoki Shinojima, Jun-ichiro Kuroda, Shigetoshi Yano
2. 発表標題 Treatment results of combination chemotherapy with high-dose methotrexate and procarbazine for primary CNS lymphoma: A single institution experience
3. 学会等名 5th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology Societies (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Keishi Makino, Hideo Nakamura, Naoki Shinojima, Jun-ichiro Kuroda, Shigetoshi Yano
2. 発表標題 Experience with three cases of primary central nervous system B cell lymphoma with dual or triple expression of MYC and BCL2/BCL6
3. 学会等名 14th Asian Society for Neuro-Oncology Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 牧野敬史、中村英夫、黒田順一郎、矢野茂敏
2. 発表標題 髄芽腫に対する治療成績の検討
3. 学会等名 第45回日本小児神経外科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 牧野敬史、中村英夫、黒田順一郎、矢野茂敏
2. 発表標題 脳原発悪性リンパ腫治療における摘出術の役割に関する再考察
3. 学会等名 社団法人日本脳神経外科学会 第76回学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 牧野敬史、中村英夫、黒田順一郎、矢野茂敏
2. 発表標題 中枢神経系原発リンパ腫におけるMYCおよびBCL2の発現と予後の関連
3. 学会等名 第35回日本脳腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 英夫 (NAKAMURA HIDEO) (30359963)	久留米大学・医学部・准教授 (37104)	
研究分担者	大塚 雅巳 (OTSUKA MASAMI) (40126008)	熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・客員教授 (17401)	
研究分担者	秀 拓一郎 (HIDE TAKU-ICHIRO) (40421820)	北里大学・医学部・准教授 (32607)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	篠島 直樹 (SHINOJIMA NAOKI) (50648269)	熊本大学・病院・講師 (17401)	
研究分担者	黒田 順一郎 (KURODA JUN-ICHIRO) (90536731)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教 (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関