

機関番号：72301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：平成19年度～平成21年度

課題番号：19390376

研究課題名（和文）

悪性脳腫瘍における分子標的としてのオートファジック細胞死の解明

研究課題名（英文）

Analysis of mechanism of Autophagic cell death in malignant glioma

研究代表者

神澤 孝夫（KANZAWA TAKAO）

財団法人脳血管研究所・講師

研究者番号：60447844

研究成果の概要（和文）：抗癌効果の output である細胞死の解析は重要であり、悪性脳腫瘍では、アポトーシスの細胞死の形態をとらず、第二の細胞死つまりのオートファジーを伴う細胞死を生じていることがわかり、その分子メカニズムを解析した。細胞死の過程で、BNIP3 が細胞死関連する唯一の分子であり、逆に、bcl-2 蛋白はその細胞死をアポトーシス同様に抑制した。オートファジック細胞死において、BNIP3 と bcl-2 蛋白の相互作用が細胞死を制御していると考えられた。また、bcl-2 蛋白の阻害などオートファジック細胞死の分子機構を制御することによって、新しい抗がん剤の開発が可能であることが示された

研究成果の概要（英文）：Strategy for targeted cancer therapies are based on analysis of signal mechanism involved in cell growth and cell death. In malignant glioma cells, conventional chemotherapeutic agents not only induce apoptosis in cancer cells, but other types of cell death referred to as programmed cell death type II which morphologically features and characterized by autophagic vesicles in the cytoplasm without chromatin condensation. In cancer research, autophagy has been considered to be a novel concept and here, we analyzed that autophagy in cell death is regulated by molecular machinery. Our analyses using malignant glioma cells have showed that BNIP3 were up-regulated in autophagic cell death after cytopathic anticancer treatments with up-regulation of its binding partners Bcl-2. Interestingly, inhibition of Bc-2 enhanced cytotoxic effect of anticancer treatments. These results indicate that association of BNIP3 and Bcl-2 regulates defensive or destructive autophagy and modulation of molecular machinery of autophagy is expected to enhance the cytotoxicity of anticancer treatments for malignant gliomas.

## 交付決定額

	直接経費	間接経費	合計
（金額単位：円）			
19年度	¥3,800,000	¥1,140,000	¥4,940,000
20年度	¥2,800,000	¥840,000	¥3,640,000
21年度	¥2,100,000	¥630,000	¥2,730,000
年度			
年度			
総計	¥8,700,000	¥2,610,000	¥11,310,000

研究分野：脳神経外科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：悪性脳腫瘍 オートファジー

## 1. 研究開始当初の背景

悪性神経膠腫の平均生存期間は、診断後、約1年と、極めて厳しい状況にあり、新規治療法の開発が望まれる。悪性脳腫瘍は、浸潤性に発育し、脳内には言語、運動など重要な中枢が存在し、手術療法単独では治療が難しく、放射線、化学療法などの補助療法が必要である。我々は、近年、副作用が少なく、臨床的に治療効果が認められた新規アルキル化剤Temozolomide(TMZ)の抗腫瘍効果のメカニズムを検討した結果、アポトーシスをとらえる事はできず、かわって、細胞質に空胞(オートファジー、自己貪食)を生じている事を究明したオートファジーは細胞内蛋白質と小器官の分解機構で、本来、飢餓などのストレス時における細胞応答である。TMZは悪性脳腫瘍細胞にオートファジーを生じ、増殖を停止させる。が、しかし、アポトーシスのような積極的な細胞死を誘導することはない。このゆるやかな抗腫瘍効果が、臨床の場において、悪性脳腫瘍患者に延命的な効果を有する事は、大変興味深い。さらに、補助療法とし欠かせない放射線も、悪性脳腫瘍細胞にオートファジーを生じている事が分った。このことから、悪性脳腫瘍におけるオートファジーの解析は、現行治療法を改善させる可能性が高く、その取り組みは急務と考える。

## 2. 研究の目的

抗癌効果のoutputである細胞死の解析は重要であるが、悪性脳腫瘍では、従来のアポトーシスの細胞死の形態をとらず、第二の細胞死つまりのオートファジーを伴う細胞死を生じる。しかしながら、第二の細胞死におけるオートファジーの役割はわかっていない。そこで、第二の細胞死の分子機構を悪性脳腫瘍において解析することにより、新たな抗がん剤の開発を行う

## 3. 研究の方法

細胞死において、オートファジーは細胞保護的に作用する場合、逆に、過渡のオートファジーは細胞死を促進することがわかった。この対極的な条件を捕らえ、各々に解析した。

## 4. 研究成果

細胞死において、オートファジーは細胞保護的に作用する場合、逆に、過渡のオートファジーは細胞死を促進することがわかった。この対極的な条件を捕らえ、各々に解析した。

(1)オートファジーが細胞保護的に働く際、オートファジー関連分子のなかでLC3分子が唯一、転写レベルで活性が更新していることがわかった。LC3蛋白をSiRNAで阻害することを試みたが、mRNAレベルでは、転写

を抑制できるが、完全には不可能であり、その阻害は細胞死を誘導するまでにはいかなかった。また、bcl-2蛋白も細胞の生存に重要であることがわかり、bcl-2蛋白の過剰発現は、第二の細胞死を抑制した。bcl-2蛋白阻害薬は、悪性脳腫瘍に細胞死を誘導させ、この際、アポトーシスが生じていることがわかった。これは、bcl-2蛋白がアポトーシスと第二の細胞死の両者をコントロールしていること示唆する。bcl-2蛋白阻害薬は、temozolomideとの併用にて、相加的な効果があり、新たな併用療法の開発につながると考える。

(2)細胞障害性に働くとき、BNIP3蛋白が発現され、単量体から2量体に変化し、細胞質からミトコンドリアに移行することがわかった。BNIP3の遺伝子を悪性脳腫瘍細胞に遺伝子導入すると細胞死が誘導されることがわかった。悪性脳腫瘍モデルにおいて、BNIP3遺伝子を腫瘍内に発現させたが、有意な腫瘍増大の抑制効果は得られなかった。BNIP3蛋白の2量体への変化は、pHや酸素飽和度に依存し、悪性脳腫瘍はheterogeneousに増殖することから、生体内で、BNIP3を均一に活性化することは困難であることが理由に挙げられる。

## 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1件)

Int J Oncol. 2008 Jul;33(1):5-15. Aberrant NF-kappaB activity is critical in focal necrosis formation of human glioblastoma by regulation of the expression of tissue factor. Xie TX, Aldape KD, Gong W, Kanzawa T, Huang S.

〔学会発表〕(計5件)

第66回癌学会総会(H19.10.05)

Autophagic cell death in malignant glioma cells by upregulation of mitochondrial cell death protein BNIP3

第66回癌学会総会(H19.10.05)

Telomere 3' overhang-specific DNA oligonucleotides induce autophagy in malignant glioma cells

第25回日本脳腫瘍学会(H19.12.10)

抗ガン効果におけるプログラム細胞死について

第34回日本脳卒中学会総会(H20.03.22)

脳虚血におけるオートファジーの役割と新規治療薬の開発

第9回日本分子脳神経外科学会(H20.08.30)

A Nobel Cancer Therapy by Inhibition of  
Autophagy in Malignant Glioma

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0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0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

( 0 )

研究者番号:

(2) 研究分担者

( 0 )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( 0 )

研究者番号: