

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008～2009
課題番号：20791004
研究課題名 (和文) 脳腫瘍のルーツ

研究課題名 (英文) The origin of brain tumor

研究代表者

山田 清文 (YAMADA KIYOFUMI)

岐阜大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40402200

研究成果の概要 (和文)：

本研究では、樹立した細胞株について cDNA アレイ解析を行い、神経幹細胞に関連した遺伝子群や腫瘍化に関する遺伝子群についての発現状態を調べた。解析においては細胞株の未分化状態、分化状態、脱分化状態間での各遺伝子の発現の変動や既存の膠芽腫細胞株との比較も行った。その結果、EGFR, VEGF, BDNF, HGF, PDGF, Shh, Wnt や Sox といった、neurogenesis に関連する因子や TGF, MYC, FOS といった oncogenesis に関わる gene も発現していた。既存の膠芽腫細胞株との比較においては、oncogene や成長因子群の発現状態は共通点が多いものの、LIF などの stemness 維持に働くものについて分化状態でも高発現を保つことが違いとして認められた。

脳腫瘍における腫瘍幹細胞の起源については、正常神経幹細胞や、神経前駆細胞、成熟したグリア細胞など諸説ある。従来、腫瘍発生に関しては、正常細胞への遺伝子変異の蓄積等によって癌化した細胞が無秩序に増殖して生じると考えられてきた。しかし、近年は腫瘍幹細胞群に血液幹細胞の成熟過程にみられるような階層性があることが示唆されてきており、個々の腫瘍幹細胞の詳細な解析によって新たな腫瘍発生の過程が明らかとなることが期待されている。脳腫瘍、特に膠芽腫では複雑な遺伝子背景を持っており、現在でも治療が最も困難な腫瘍である。今回の解析においても、樹立した各細胞株は例えば成長因子群に関して等でも異なった遺伝子発現パターンを示していた。つまり、悪性脳腫瘍は個々が異なる性質を持つことを示す。薬剤感受性の違いなど、臨床上で各腫瘍の性質の相違はしばしば経験されるが、今回の結果はこれを裏付ける形となった。現時点では、腫瘍幹細胞の起源が正常神経幹細胞なのか、神経前駆細胞なのかグリア細胞なのか確定する根拠は得られなかったが、少なくとも神経幹細胞との共通点があることが確認された。また、各細胞株の遺伝子発現パターンの違いを示し、本研究のような脳腫瘍における腫瘍幹細胞の系譜の解析が、個々の腫瘍に応じた治療、すなわちテーラーメイド治療への新たな糸口となる可能性を示唆する結果となった。本成果については、cytotherapy 誌に投稿中である。

研究成果の概要 (英文)：

In the present study, the gene expression patterns of brain tumor stem cells were analyzed by means of cDNA array. The tumor stem cells were separated from glioblastoma patients by us. Genes related to neurogenesis, oncogene, other stem cells including neural stem cells were studied. Cells were extracted from undifferentiated state, differentiated state, and dedifferentiated state. Each stage of the cells were examined and compared with different state or a cell line of glioblastoma (U87).

As a result, we detected the brain tumor stem cells express not only oncogene (TGF, MYC, FOS, and so on), but also neurogenesis-related genes (EGFR, VEGF, BDNF, PDGF, Shh, Wnt, Sox, etc.) as well as genes for keeping stemness such as LIF. On the other hand, the

expression patterns were different among respective cell lines. These patterns are too complicated for now to find a hierarchy of differentiation from the most primitive cells to more differentiated type of tumor stem cells. However, this discovery should contribute to establishment of personalized medicine which must be more effective than the present therapies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

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：脳腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

脳悪性腫瘍における難治性を説明する概念として、腫瘍幹細胞という概念が提唱されるようになってきた。これはその細胞の持つ未分化能や高度な可塑性のために、各治療後も幹細胞の性質をもったものだけが生き残って再増殖し、再発を来すという説である。研究開始当初は、この概念が注目されはじめたばかりであり、本邦発のこのテーマを扱った論文の発表はなかった。

2. 研究の目的

まず、正常神経幹細胞と脳腫瘍幹細胞の違いを明らかにする必要があるが、本邦ではヒト神経幹細胞の入手が困難なため実際に比較することは難しい。そこで、我々は、より正常神経幹細胞に近い腫瘍幹細胞を発見すべく、single cellからの幹細胞株の樹立を行い、遺伝子解析等で様々な分化段階があるかどうかを調べ、腫瘍幹細胞のルーツを検索することを目的とした。

3. 研究の方法

- ・クローニングした脳腫瘍幹細胞株をcDNA array, マウスへの移植、免疫学的検索で分類可能かどうかを検討した。
- ・二次腫瘍の性質の違いを検討した。
- ・以上の結果から分化段階の階層性を見出すことができるかどうかを検討した。

4. 研究成果

- ・今回の我々の検討では、各細胞株間の違

いから階層性の解明を導くには至らなかったが、それぞれが異なった遺伝子発現パターンを示していることや、分化状態でも幹細胞マーカーを発現していること等を明らかにし、今後の本テーマの解明や将来的には個々の腫瘍の遺伝子発現パターンの違いを生かしたテーラーメイド治療の開発に貢献する結果となった。

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16件)

- ①Yoshimura S, Kitajima H, Enomoto Y, Yamada K, Iwama T: Staged angioplasty for carotid artery stenosis to prevent postoperative hyperperfusion. Neurosurgery 64: 122-128, 2009 査読有り
- ②Yamada K, Yoshimura S, Kawasaki M, Enomoto Y, Asano T, Minatoguchi S, Iwama T: Effects of atorvastatin on carotid atherosclerotic plaques: a randomized trial for quantitative tissue characterization of carotid atherosclerotic plaques with integrated backscatter ultrasound. Cerebrovascular Diseases 28: 417-424, 2009 査読有り
- ③Yamada K, Kawasaki M, Yoshimura S, Enomoto Y, Asano T, Minatoguchi S, Iwama T: Prediction of silent ischemic lesions

after carotid artery stenting using integrated backscatter ultrasound and magnetic resonance imaging.

Atherosclerosis, 2009 in press 査読有り

④Kato H, Kanematsu M, Mizuta K, Aoki M, Yamada K, Yamakawa H, Iwama T, Hirose Y: Fluid-fluid level formation: a rare finding of extracranial head and neck schwannomas. AJNR Am J Neuroradiol 30: 1451-53, 2009 査読有り

⑤岩間 亨, 吉村紳一, 矢野大仁, 大江直行, 榎本由貴子, 山田清文, 高木俊則: 脳動静脈奇形摘出術の基本戦略. 脳卒中の外科 37: 390-394, 2009 査読有り

⑥山田清文, 吉村紳一: 脳血管内治療を支える最新の薬物療法. 分子脳血管病. 8 307-313, 2009 査読有り

⑦Yamada K, Yoshimura S, Enomoto Y, Yamakawa H, Iwama T: Effectiveness of combining continuous cerebrospinal drainage and intermittent intrathecal urokinase injection therapy in preventing symptomatic vasospasm following aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Br J Neurosurg 22: 649-653, 2008 査読有り

⑧吉村紳一, 山田清文, 榎本由貴子, 中山則之, 大江直行, 矢野大仁, 岩間 亨: 破裂脳動脈瘤におけるEBMの解釈と治療選択. 脳外誌 17: 850-854, 2008 査読有り

⑨榎本由貴子, 山田清文, 吉村紳一, 岩間 亨: 当院におけるt-PA静注療法症例の検討. 第5回岐阜臨床神経集談会 岐阜大学医学部紀要 55: 95, 2008 査読有り

⑩榎本由貴子, 吉村紳一, 山田清文, 高木敏範, 岩間 亨: 頸部頸動脈ステント留置術における術前血小板凝集能測定の有効性. JNET 2:188-192, 2008 査読有り

⑪田中嘉隆, 北島英臣, 山田清文, 吉村紳一, 安藤弘道, 岩間 亨: 急性期脳梗塞に対する血栓溶解療法～tPA静注療法認可後の経験. 第54回岐阜臨床神経集談会 岐阜大学医学部紀要 55: 91-92, 2008 査読有り

⑫山田清文, 吉村紳一, 山川春樹, 岩間 亨: 脳梗塞を来し頸動脈に可動性プラークを認めた本態性血小板血症の1例. JNET 2: 62-67, 2008 査読有り

⑬山田清文, 吉村紳一, 榎本由貴子, 北島英臣, 玉川紀之, 岩間 亨: 急性期脳底動脈閉塞症に対する局所線溶療法の検討. 第54回岐阜臨床神経集談会 岐阜大学医学部紀要 55: 92, 2008 査読有り

⑭山田清文, 吉村紳一, 池亀由香, 榎本由貴子, 中山則之, 大江直行, 山川春樹, 矢野大仁, 岩間 亨: 超音波Integratend

backscatter (IBS) 法による内頸動脈プラークの組織性状解析の試み. 第55回岐阜臨床神経集談会 岐阜大学医学部紀要 55: 95, 2008 査読有り

⑮竹中元康, 田口佳宏, 山口 忍, 鷺見和幸, 飯田宏樹, 土肥修司, 山田清文, 岩間 亨: 頸部硬膜外自家血パッチが有効であった脳脊髄液減少症の一例. 第56回岐阜臨床神経集談会 岐阜大学医学部紀要 55: 100, 2008 査読有り

⑯田口佳広, 飯田宏樹, 鷺見和行, 山口 忍, 竹中元康, 土肥修司, 山田清文, 岩間 亨: 外傷性頸部症候群に伴う頭痛に硬膜外自己血パッチが有効であった1症例-脳脊髄液減少症の診断における硬膜外生食注入の有効性-. 第55回岐阜臨床神経集談会 岐阜大学医学部紀要 55: 95, 2008 査読有り

〔学会発表〕(計34件)

①江頭裕介, 吉村紳一, 田中嘉隆, 山田清文, 榎本由貴子, 岩間 亨: 脳主幹動脈急性閉塞例に対する最近の試み. 第33回中部地区脳神経血管内手術懇話会. 名古屋, 2010.3.27

②江頭裕介, 吉村紳一, 船津奈保子, 山田清文, 岩間 亨: 皺を利用した前額部横切開による両側前頭開頭術. 第3回日本整容脳神経外科研究会. 東京, 2010.3.20

③山田清文: CAS術中に遠位塞栓症を生じた1例. 第2回脳血管内治療楽座. 岐阜, 2010.3.19

④山川春樹, 植松幸大, 村瀬 悟, 谷川原徹哉, 山田清文, 岩間 亨: 低髄液圧症候群に合併した慢性硬膜下血腫 -3症例の検討-. 平成22年岐阜脳神経外科カンファランス. 岐阜, 2010.1.24

⑤吉村紳一, 江頭裕介, 山田清文, 田中嘉隆, 榎本由貴子, 岩間 亨: 血栓化大型脳動脈瘤に対する挑戦的治療. 平成22年岐阜脳神経外科カンファランス. 岐阜, 2010.1.24

⑥山田清文, 吉村紳一, 榎本由貴子, 岩間 亨: スタチンにより頸動脈プラークは安定化するか?. 第2回岐阜臨床血管病研究会. 岐阜, 2010.1.23

⑦大江直行, 田中嘉隆, 野中裕康, 山田清文, 江頭裕介, 中山則之, 矢野大仁, 吉村紳一, 岩間 亨: 脳室内出血に対する神経内視鏡手術成績. 第16回日本神経内視鏡学会. 富山, 2009.12.4

⑧江頭裕介, 吉村紳一, 山田清文, 田中嘉隆, 岩間 亨: ソフトプラーク例に対するproximal protection法によるCAS. NeuroEndovascular Therapy Joint Forum in Nagoya. 名古屋, 2009.12.4

⑨田中嘉隆, 吉村紳一, 江頭裕介, 榎本由

貴子, 山田清文, 岩間 亨: 当院における椎骨脳底動脈急性閉塞症の経験. 第12回岐阜県脳卒中・血管内治療懇話会. 岐阜, 2009.11.28

⑩山田清文, 吉村紳一, 川崎雅規, 榎本由貴子, 浅野隆彦, 岩間 亨: 頸動脈プラーク診断によるCAS後distal embolismの予測. 第25回日本脳神経血管内治療学会総会. 富山, 2009.11.19

⑪Yamada K, Kawasaki M, Yoshimura S, Enomoto Y, Asano T, Minatoguchi S, Iwama T: Prediction of silent ischemic lesions after carotid artery stenting using integrated backscatter ultrasound and magnetic resonance imaging. American Heart Association Scientific Sessions 2009. Orlando, 2009.11.16

⑫Yoshimura S, Egashira Y, Enomoto Y, Yamada K, Iwama T (e-poster): Recent experience of balloon angioplasty for an unrecanalized intracranial artery after intravenous recombinant tissue plasminogen activator. 2009 Asian-Australasian Interventional Neuroradiology/Surgery Forum (INR Forum 2009), Taipei, 2009.10.5

⑬Yoshimura S, Egashira Y, Yamada K, Enomoto Y, Iwama T (symposium): How to decide open surgery vs endovascular treatment for intracranial aneurysm, Japanese opinion. 2009 Asian-Australasian Interventional Neuroradiology/Surgery Forum (INR Forum 2009), Taipei, 2009.10.4

⑭山田清文, 吉村紳一, 船津奈保子, 江頭裕介, 榎本由貴子, 岩間 亨: 塞栓症の原因となった椎骨動脈起始部狭窄に対しcoil塞栓術を行った1例. 第32回中部地区脳神経血管内手術懇話会(夏の会). 高山, 2009.8.29

⑮江頭裕介, 吉村紳一, 船津奈保子, 山田清文, 榎本由貴子, 岩間 亨: コイル塞栓術後に遠隔部脳実質内血腫の増大を来した破裂脳動脈瘤の2例. 第32回中部地区脳神経血管内手術懇話会(夏の会). 高山, 2009.8.29

⑯野村悠一, 山田清文, 野中裕康, 中山則之, 大江直行, 矢野大仁, 吉村紳一, 岩間 亨: 嚔下性肺炎に対するゾシンの初期治療経験. 第12回岐阜県脳神経外科懇話会. 岐阜, 2009.5.30

⑰船津奈保子, 江頭裕介, 山田清文, 吉村紳一, 岩間 亨: 急性期CEAを施行した2症例. 第61回岐阜臨床神経集談会. 岐阜, 2009.5.25

⑱山田清文, 吉村紳一, 辻本真範, 島袋勝也, 竹村博文, 岩間 亨: 内頸動脈狭窄症

と冠動脈狭窄症に対する同時手術の経験. 第76回日本脳神経外科学会中部支部学術集会. 名古屋, 2009.4.11

⑲岩間 亨, 吉村紳一, 矢野大仁, 榎本由貴子, 山田清文: 脳動静脈奇形摘出術の術前処置としての流入血管塞栓術の有用性. Stroke2009 (第34回日本脳卒中学会総会第38回日本脳卒中の外科学会 第25回スバズム・シンポジウム). 松江, 2009.3.21

⑳吉村紳一, 榎本由貴子, 山田清文, 野中裕康, 岩間 亨: CAS high risk病変に対するCEA. 平成21年岐阜脳神経外科カンファレンス. 岐阜, 2009.1.25

㉑山田清文, 吉村紳一, 川崎雅規, 岩間 亨: Atorvastatinは頸動脈プラークを安定化させる. 第3回IBエコー研究会. 名古屋, 2009.1.10

㉒榎本由貴子, 吉村紳一, 山田清文, 辻本真範, 山内圭太, 野中裕康, 中山則之, 大江直行, 矢野大仁, 岩間 亨: 急性期主幹動脈閉塞症に対する血栓溶解療法～当院における3年間の検討～. 第11回岐阜県脳卒中・血管内治療懇話会. 岐阜, 2008.12.6

㉓山田清文, 吉村紳一, 榎本由貴子, 川崎雅規, 岩間 亨: プラーク診断によりCAS後distal embolismは予測できるか? 第24回日本脳神経血管内治療学会総会. 名古屋, 2008.11.15

㉔榎本由貴子, 吉村紳一, 山田清文, 岩間 亨: t-PA静注療法再開通例に対する機械的血栓破砕術. 第24回日本脳神経血管内治療学会総会. 名古屋, 2008.11.15

㉕山田清文, 吉村紳一, 高木俊範, 榎本由貴子, 岩間 亨: 妊娠後期の急性中大脳動脈閉塞症に対し血栓溶解療法を施行した1例. 第75回日本脳神経外科学会中部支部学術集会. 金沢, 2008.10.25

㉖山田清文, 吉村紳一, 青山琢磨, 湊口信也, 島袋勝也, 竹村博文, 岩間 亨: 頸部頸動脈狭窄症術前における冠動脈病変スクリーニングの意義. 第68回社団法人日本脳神経外科学会学術総会. 東京, 2008.10.15

㉗大江直行, 野中裕康, 田中嘉隆, 山田清文, 江頭裕介, 中山則之, 矢野大仁, 吉村紳一, 岩間 亨: 神経内視鏡手術を行った脳室内出血症例の検討. 第68回社団法人日本脳神経外科学会学術総会. 東京, 2008.10.15

㉘山田清文, 吉村紳一, 榎本由貴子, 川崎雅規, 浅野隆彦, 岩間 亨: スタチンは頸動脈プラークを安定化させるのか? 第67回社団法人日本脳神経外科学会学術総会. 盛岡, 2008.10.1

㉙山田清文: 妊娠39週の脳梗塞に対する血栓溶解療法. 第30回中部地区脳神経血管内手術懇話会. 高山, 2008.8.24

⑩榎本由貴子, 山田清文, 吉村紳一: 頸椎 instrumentation 術後 Vertebral AV fistula の一例. 第30回中部地区脳神経血管内手術懇話会. 高山, 2008.8.23

⑪榎本由貴子, 吉村紳一, 高木俊範, 山田清文, 中山則之, 大江直之, 矢野大仁, 岩間 亨: 当院における破裂脳動脈瘤の治療選択. 岐阜脳卒中セミナー. 岐阜, 2008.8.1

⑫山田清文, 吉村紳一, 榎本由貴子, 岩間 亨: ACAP study-その初期成績について. 第8回岐阜 CVD 外科研究会. 岐阜, 2008.6.21

⑬山田法頭, 豊田 泉, 山田実貴人, 劫熊田恵介, 岩間 亨, 吉村紳一, 山田清文, 古井辰郎, 日江井香代子, 小倉真治: 妊娠39週に脳梗塞を発症した1例～血栓溶解療法を行うべきか?～. 第7回日本救急医学会中部地方会総会・学術集会. 富山, 2008.5.18

⑭山内圭太, 吉村紳一, 榎本由貴子, 山田清文, 岩間 亨: もやもや病に対する脳血行再建術: 術前後の脳血流変化と短期予後について. 第74回日本脳神経外科学会中部支部学術集会. 長久手, 2008.4.19

[図書] (計2件)

①山田清文, 吉村紳一, 岩間 亨: 内頸動脈狭窄に対する頸動脈ステントの適応は?. 2009-2010EBM 神経疾患の治療. 岡本幸市編. 棚橋紀夫編. 水澤英洋編. P98-101, 中外医学社, 東京, 2009

②山田清文, 吉村紳一: 血管内治療のフロントライン; 脳血管内治療を支える最新の薬物療法. 分子脳血管病 8. P59-65, 先端医学社, 東京, 2009

[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
<http://www.med.gifu-u.ac.jp/neurosurgery/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 清文 (YAMADA KIYOFUMI)
岐阜大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 40402200

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: