

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18266

研究課題名（和文）特異糖鎖結合タンパクを用いた嗅神経芽細胞腫の標識 - 光免疫療法の開発を目指して -

研究課題名（英文）Labeling of Olfactory Neuroblastoma Using a Specific Glycan-Binding Protein:
Toward the Development of Photoimmunotherapy

研究代表者

武田 鉄平（Takeda, Teppei）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：00837289

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：嗅神経芽細胞腫（ONB）に対する近赤外線光免疫療法（NIR-PIT）の適応を目指し、糖鎖結合タンパク質および膜タンパク質の探索を行った。20種類のレクチンを用いた糖鎖発現解析では、ONB特異的な糖鎖結合タンパク質は確認されなかったが、RNAシーケンシング解析によりSSTR2およびCNGA2などの膜タンパク質を同定した。特にSSTR2がONB細胞膜に高度発現することが確認された。ONB細胞株の樹立は困難だったため、今後は異種移植モデルの作成とSSTR2を主要ターゲットとしたNIR-PITの治療法確立を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嗅神経芽細胞腫（ONB）の治療における新しいアプローチとして、近赤外線光免疫療法（NIR-PIT）の適応可能性を探る本研究は、ONBの治療法を革新する可能性がある。特に、ONBにおけるSSTR2の発現は、NIR-PITの有望な標的としての基盤を提供する可能性がある。学術的には、ONBに対する新たな治療法の開発を促進し、腫瘍の分子生物学的理解を深めることができる。社会的には、より効果的で選択的な治療法の提供により、患者の生存率を向上させることが期待される。

研究成果の概要（英文）：To explore the applicability of near-infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) for olfactory neuroblastoma (ONB), we investigated glycan-binding proteins and membrane proteins. Using 20 types of lectins for glycan expression analysis, no ONB-specific glycan-binding proteins were identified. However, RNA sequencing analysis revealed membrane proteins such as SSTR2 and CNGA2, with SSTR2 highly expressed on the ONB cell membrane. Establishing an ONB cell line proved challenging. Therefore, future efforts will focus on creating a xenograft model and developing NIR-PIT treatment targeting SSTR2.

研究分野：translational research

キーワード：嗅神経芽細胞腫 次世代シーケンス NIR-PIT 糖鎖結合タンパク 頭蓋底腫瘍 細胞株

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

当該研究は、嗅神経芽細胞腫 (ONB) という稀ながらも治療上の課題を抱える悪性腫瘍に焦点を当てた。ONB は鼻腔嗅裂部の嗅上皮から発生し、その有病率は全鼻副鼻腔悪性腫瘍のわずか 3-5% であり、希少な疾患である。この疾患に対する効果的な治療法は未だ確立されておらず、従来の手術療法や放射線療法にも課題が存在する。手術においては ONB と健常組織の判別が難しく、放射線療法では健常組織への障害が懸念されている。

近年、NIR-PIT と呼ばれる新しい治療法ががん治療の一環として注目されている。この治療法は腫瘍に標識された抗体に近赤外線を照射し、腫瘍細胞だけを選択的に死滅させる仕組みを持っている。NIR-PIT は放射線療法よりも高い選択性が期待されるが、ONB 細胞表面を選択的に認識する抗体が未だ見つかっていない課題がある。この課題に対処するため、本研究では ONB 細胞の特異的な標的を特定し、NIR-PIT 治療法の確立を目指した。

2. 研究の目的

当該研究の主な目的は、嗅神経芽細胞腫 (ONB) において腫瘍細胞膜特異的なタンパク質を同定し、これを活用して近赤外線光免疫療法 (NIR-PIT) を実施するための検証を行うことである。具体的には、腫瘍細胞膜に発現するタンパク質を特定するために糖鎖結合タンパク質および膜タンパク質の解析を行い、特に ONB に特異的に発現するタンパク質を同定することを目指す。さらに、この特異的なタンパク質をターゲットとした NIR-PIT の効果を *in vivo* 実験によって検証する。

3. 研究の方法

1. レクチンを用いた糖鎖結合タンパク質解析

ONB 検体の糖鎖プロファイルを解析するため、23 検体のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 切片を用いた。これらの切片に 20 種類のレクチンを反応させ、糖鎖結合タンパク質の発現パターンを詳細に解析した。

2. RNA シークエンシング (RNA-seq) を用いた遺伝子発現解析

ONB の遺伝子発現プロファイルを特定するため、13 検体から RNA を抽出し、次世代シークエンシング技術 (RNA-seq) を用いて解析を行った。得られたデータを基に、ONB 特異的な遺伝子発現パターンを同定した。

3. ONB の細胞株の作成

ONB 細胞株の樹立のために、4 例の ONB 組織から細胞を回収し、エクسプラント培養を実施した。これにより得られた増殖細胞について、ダブリングタイムの測定および細胞特性の詳細な解析を行い、ONB 細胞株の性質を明らかにした。

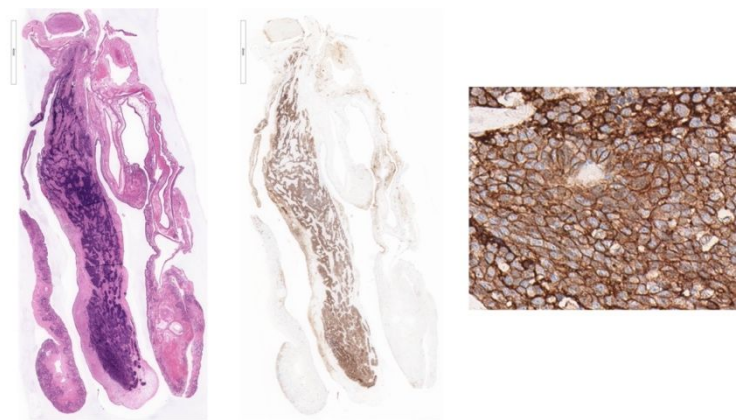
4. 研究成果

本研究において、糖鎖結合タンパク質の探索では、ONB に特異的な糖鎖結合タンパク質を同定することはできなかった。しかし、RNA シークエンシング (RNA-seq) 解析により、CNGA2 および SSTR2 などの膜タンパク質が同定された。特に、ソマトスタチン受容体のサブタイプである SSTR2 が ONB 細胞の細胞膜に高度に発現していることが確認された (図 1)。

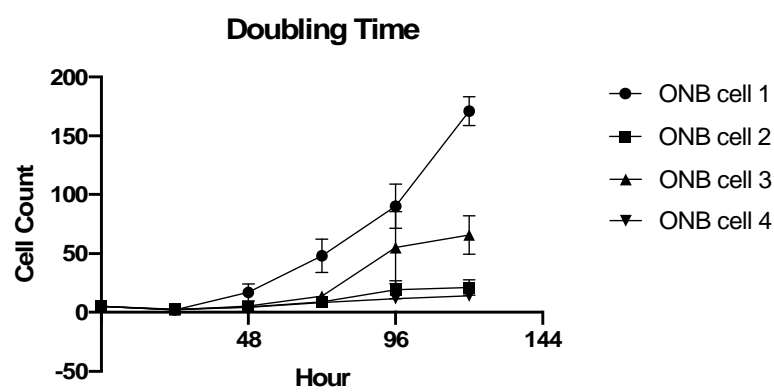
ONB 細胞株の樹立を試みた結果、4 例の ONB 組織から細胞を回収しエクスプラント培養を行ったが、細胞の増殖速度には個体差が見られた。ダブリングタイムの測定では、各 ONB 細胞株の増殖速度が異なることが示された (図 2)。また、細胞特性の解析では、ONB を特徴づけるタンパク質群のうち CD56 の発現は確認されたが、クロモグラニン A、シナプトフィジン、S100 などのタンパク質の発現は認められなかった (図 3)。

以上の成果を踏まえ、ONB 細胞株の永続的な樹立は困難であることが判明した。今後の研究方針としては、異種移植モデルの作成を進め、SSTR2 を主要ターゲットとした NIR-PIT の治療法確立を目指すこととする。このアプローチにより、ONB に対する新規かつ効果的な治療法の開発に寄与することを期待している。

1

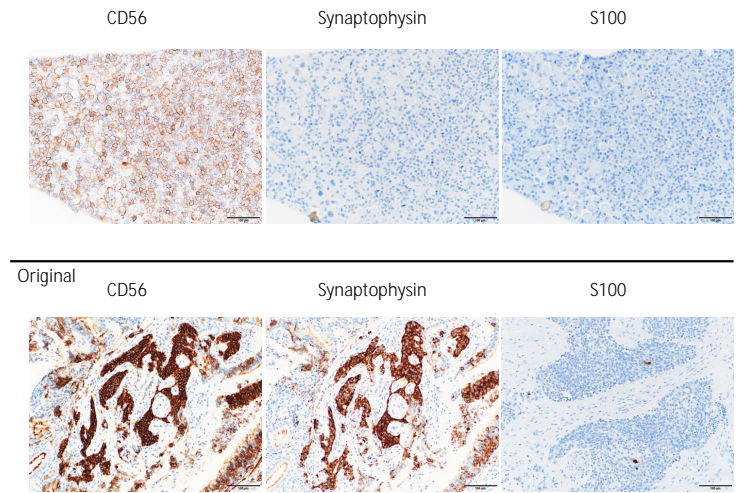


2



3

ONB Cell Culture P2



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------