

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 年度～2011 年度

課題番号：21591877

研究課題名（和文） 頭蓋内胚細胞腫瘍における Wnt シグナルの解析

研究課題名（英文） Analysis of Wnt pathway in intracranial germ cell tumors

研究代表者

松谷 雅生（MATSUTANI MASAO）

埼玉医科大学・医学部・名誉教授

研究者番号：90010454

研究成果の概要（和文）：頭蓋内胚細胞腫瘍について、網羅的遺伝子解析の結果から、その関与が示唆された Wnt シグナル伝達系の主要分子の発現を、免疫組織化学の手法で解析した。  
-catenin が従来存在しない未熟奇形腫のマーカーになる可能性が示唆されたが、その他の分子の発現には一定の傾向は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：We analyzed expression of the major molecules involved in the Wnt signal pathway in intracranial germ cell tumors using immunohistochemical technique.  
-catenin was suggested to be a novel tumor marker for immature teratoma. There was not a significant trend of expression in the other molecules analyzed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

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

キーワード：胚細胞腫瘍、腫瘍マーカー

1. 研究開始当初の背景

頭蓋内胚細胞腫瘍（CNSGCT）の発生に関しては、始原生殖細胞 primordial germ cell 起源説が有力である。GCT に関する分子遺伝学的知見としては、wild-type TP53 蛋白の過剰発現，cyclin D2 遺伝子の増幅と過剰発現，isochromosome 12p，

X 染色体の増加等が知られている。これらの変化は、減数分裂過程の内、特に DNA ploidy が 4n になる過程、即ち第一減数分裂の prophase の pachytene stage において認められる形質で、primordial germ cell の減数分裂過程の或るタイミングが腫瘍化のターゲットであることを示唆する。しか

し具体的な腫瘍化の機序は未解明である。また CNSGCT は放射線照射や抗がん剤による化学療法に対する感受性が幅広い。例えば germinoma は放射線治療および化学療法に対して極めて感受性が高く、24Gy の放射線照射と 3 クールの化学療法によって 10 年生存率が 90% に達する。一方、胎児性癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、およびこれらの組織型を主体とする mixed germ cell tumor は、放射線照射と化学療法に対して共に感受性が低く、50Gy 以上の放射線と年余にわたる化学療法を必要とする。Germinoma であれば現行の放射線照射 + 化学療法によって 90% の症例で治癒させることが出来るが、裏返せば 10% の treatment failure がある。この 10% の症例を予め識別することが出来れば、低感受性群並の強力な治療を行なうことによって救うことが出来るかもしれない。臨床的な観点から治療感受性を支配している分子機構の解明も急務である。

我々は CNSGCT 19 例の凍結標本を用いて cDNA array による preliminary な解析を行なった。従来から言われているマーカー、HCG、AFP、PLAP、c-Kit は、いずれもそれぞれに特有の組織型において発現している事が観察され、cDNA array 解析が十分に信頼できる情報を提供する事が確認された。いくつかの遺伝子の発現が germinoma と non-germinomatous GCT を区別する遺伝子としてピックアップされたが、その中には primordial germ cell の分化に関与していると報告されている遺伝子が複数含まれていた。特に TGF- $\beta$  関連因子である Bone Morphogenetic Protein-4(BMP-4) が統計学的有意差を

持って non-germinomatous tumor に高発現していた (図 1)。BMP-4 は extraembryonic ectoderm の細胞が germ cell lineage に入る最初の段階を制御している事が知られていることから、詳細に検討する必要があるものと考察された。

今回は、CNSGCT の発生機序ならびに治療感受性に関する網羅的な知見を得るために更に複数の新規腫瘍マーカー分子候補の抽出と解析を計画した。

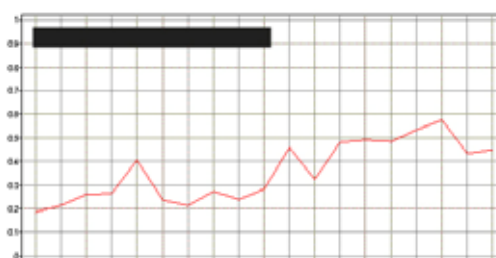


図 1. 頭蓋内胚細胞腫瘍における BMP-4 の発現。横軸は症例。縦軸は発現レベル。左の 10 症例は germinoma。右の 9 症例は non-germinomatous GCT。Germinoma 群において発現が有意に ( $p=4.1 \times 10^{-6}$ ) 低い。

今回注目した分子は frizzled (図 2) である。Frizzled も上述の expression 解析において、BMP-4 と同様に germinoma に比べて non-germinomatous GCT に高発現している分子としてピックアップされた。Frizzled は Wnt (ウイント) の受容体である。Wnt シグナルは細胞の分化のみならず胚葉分化や臓器形成にも関与していることが知られている。Wnt-PCP 経路は球形の胚を前後軸方向に伸長させるために重要である。また Wnt シグナルは幹細胞の自己複製にも関係していると言われている。さらに、Wnt-カテニン経路は癌化との関連が示され抗癌剤創薬標的の可能性についても研究が進められている。CNSGCT における Wnt シグナルの意義を明らかにすることは、多様な意味で重要か

つ興味深いテーマであると考えられる。

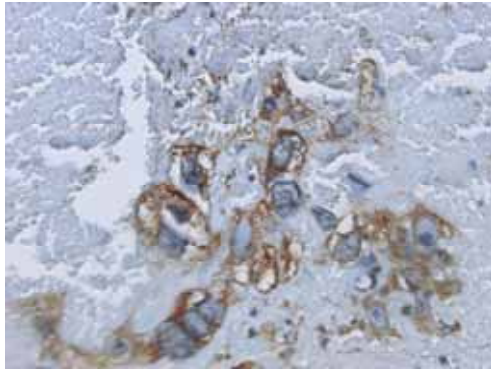


図 2 . NGSCT(絨毛癌 + 未熟奇形腫)の Frizzled 発現の例 .

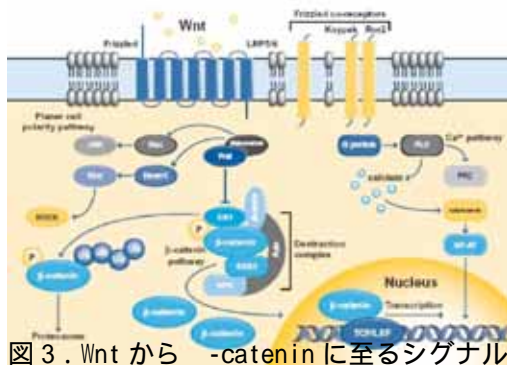


図 3 . Wnt から  $\beta$ -catenin に至るシグナル伝達経路模式図 .

## 2 . 研究の目的

(1) CNSGCT における Wnt シグナルに係わる分子の発現を腫瘍組織を用いて免疫組織化学法で解析する . すぐれて特異的な染色様態を示した分子は腫瘍マーカーとしての可能性を検討する .

(2) 得られた発現のパターンを腫瘍の組織型 , 化学療法・放射線照射への反応性と対比させるとともに , CNSGCT における Wnt シグナルの意義について考察する .

## 3 . 研究の方法

Wnt シグナル伝達系の主要分子である Wnt family member と  $\beta$ -Catenin について、ホ

ルマリン固定パラフィン包埋組織片を用いた免疫組織化学染色を行った。

Wnt family member としては Wnt-1, Wnt-2b, Wnt3A, Wnt5A, Wnt6, Wnt7A, Wnt9A および Wnt10a を解析した。

陽性コントロールには大腸癌と肺腺癌を用いた。

## 4 . 研究成果

(1) 27 例 28 検体の頭蓋内胚細胞腫について染色を行った . 組織型の内訳は、germinoma 15 例 16 検体 (1 例は初発と再発), germinoma と immature teratoma の mixed tumor 2 例 , immature teratoma 7 例 , immature teratoma と卵黄嚢腫瘍 , 絨毛癌 , 胎児性癌などの mixed tumor 3 例である .

(2) すべての抗体について , ホルマリン固定パラフィン包埋検体を用いた免疫組織化学染色の条件を決定した .

(3) Wnt5a の発現は 27 症例 28 検体全てにおいて陽性で , 細胞膜および細胞質に発現していた .

(4)  $\beta$ -catenin は immature teratoma およびその mixed tumor 全てにおいて発現していた . 特に腺管構造を示す部分の細胞膜と , 卵黄嚢腫瘍の細胞質ならびに核に強発現が見られた . 一方 germinoma においては全例発現が見られないかごく淡い染色を示すのみであった .

(5) その他の Wnt family member の染色様態は不規則で , 一定の傾向は認められなかった .

(6)  $\beta$ -catenin は immature teratoma のマーカーとなる可能性が示唆された . Immature

teratoma のマーカーは従来存在せず ,臨床的に極めて有用となる可能性がある . 今後症例を積み重ねて詳細に検討してゆく必要がある .

## 5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 0 件 )  
該当なし

[ 学会発表 ] ( 計 0 件 )  
該当なし

[ 図書 ] ( 計 0 件 )  
該当なし

[ 産業財産権 ]  
出願状況 ( 計 0 件 )  
該当なし

取得状況 ( 計 0 件 )  
該当なし

[ その他 ]  
ホームページ等  
該当なし

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

松谷 雅生 ( MATSUTANI MASAO )  
埼玉医科大学・医学部・名誉教授  
研究者番号 : 90010454

### (2) 研究分担者

西川 亮 ( NISHIKAWA RYO )  
埼玉医科大学・医学部・教授  
研究者番号 : 90237678

### (3) 連携研究者

該当なし