

## 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 3 月 31 日現在

機関番号：13101  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2009年度～2011年度  
 課題番号：21791349  
 研究課題名（和文）  
**悪性神経膠腫における天然化合物を用いたオートファジーの誘導と薬剤耐性の克服**  
 研究課題名（英文）  
 The induction of autophagy in malignant glioma cells treated with natural compound  
 研究代表者  
 青木 洋 （ AOKI HIROSHI ）  
 新潟大学・医歯学総合病院・特任助教  
 研究者番号：30515771

## 研究成果の概要（和文）：

天然化合物であるクルクミンは *in vitro*, *in vivo* において悪性グリオーマ細胞に対し高い高腫瘍効果を示した。その作用機序としては、NF- $\kappa$ B の down-regulation を介した腫瘍増殖抑制効果が考えられるが、apoptosis や autophagy の誘導が関連している結果が得られた。NF- $\kappa$ B の down-regulation を応用した治療戦略は悪性神経膠腫に対する新たな治療戦略として有望であると考えられた。

## 研究成果の概要（英文）：

Curcumin has high anticancer efficacy *in vitro* and *in vivo* by down-regulation of NF- $\kappa$ B, followed by induction of autophagy and autophagy. Targeting Autophagy through down-regulation of NF- $\kappa$ B is a new treatment strategy in patients with malignant glioma.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：脳神経外科学

科研費の分科・細目：悪性脳腫瘍

キーワード：NF- $\kappa$ B / オートファジー / クルクミン / テモゾロマイド / 天然化合物 / 悪性神経膠腫 / 薬剤耐性

## 1. 研究開始当初の背景

Curcuminの抗腫瘍効果の機序の1つとしてNF- $\kappa$ B活性の抑制が挙げられるが、このNF- $\kappa$ B活性の抑制はTemozolomideへの耐性にかかわるMGMT蛋白の発現を抑制すると報告されている。

## 2. 研究の目的

TemozolomideにCurcuminを併用することにより効果的な悪性グリオーマの新たな治療法を開発する。

## 3. 研究の方法

Curcumin, temozolomideそれぞれのグリオーマに対する効果、反応を以下の項目について検討した。(1) cell viability assayにてグリオーマ細胞に対する抗腫瘍効果を検討。(2) DNA flowcytometryでcell cycleを検討。

(3) DNA flowcytometry、Hoechst染色、TUNEL染色にてアポトーシスを評価。

(4) acridine orange facs解析、GFP-LC3 dots assay、LC3B抗体を用いたWestern blotting・免疫染色にてオートファジーを評価。5) NF- $\kappa$ Bの発現をWestern blotting、免疫染色にて検討。

(6) MGMTの発現をWestern blotting、免疫染色で検討。

## 4. 研究成果

TemozolomideにCurcuminを併用することにより、より高い抗腫瘍効果が得られることが示された。その機序として、autophagyとNF- $\kappa$ BとMGMTの3者が関わっていることを示唆する結果がえられた。つまり、①Curcuminの抗腫瘍効果には

NF- $\kappa$ Bの抑制が関連していること。②autophagyがCurcumin, Temozolomide両者に対して薬剤耐性機構として働いていること。③MGMTはCurcuminによって抑制され、Temozolomideとの併用により抗腫瘍効果が高められること、④そのMGMTの抑制はNF- $\kappa$ Bの抑制を介していること、である。その併用療法の具体的な結果に関しては、未発表であるため現段階では述べられないし、解明されていない部分もある。いずれにせよ、オートファジーと薬剤耐性機構の関連に焦点をおいた治療法の開発に向けて大きく前進した。

## 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 1 件)

① Induction of autophagy in temozolomide treated malignant gliomas.  
Natsumeda M, Aoki H, Miyahara H, Yajima N, Uzuka T, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Fujii Y.  
Neuropathology. 2011 Oct;31(5):486-93.  
doi:  
10.1111/j.1440-1789.2010.01197.x.

[学会発表] (計 8 件)

- ① 悪性神経膠腫における Autophagy の役割. 第 12 回分子脳神経外科学会、2011 年、青木 洋、岡田 正康、小倉 良介、小林 勉、藤井 幸彦
- ② Autophagy. 脳神経研究会、2010、青木 洋
- ③ Monitoring autophagy in malignant glioma with antibody against LC3B. 69th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2010, Hiroshi Aoki, Manabu Natsumeda, Seiji Kondo, Yukihiro Fujii
- ④ LC3B 抗体を用いた悪性グリオーマのオートファジーモニタリング. The 11th Annual Meeting of the Japan Society for Molecular Neurosurgery, 2010, Hiroshi Aoki, Manabu Natsumeda, Seiji Kondo, Yukihiro Fujii
- ⑤ オートファジー阻害薬を用いた新たな悪性グリオーマ治療の展開. 第 10 回分子脳神経外科学会、2009 年、青木 洋、篠島 直樹、近藤 靖子、近藤 精二、

藤井 幸彦

- ⑥ オートファジーの役割に注目したテモゾロミド併用薬の検討. The 27th Annual Meeting of the Japan Society for Neuro-Oncology, 2009, Hiroshi Aoki, Naoki Shinojima, Yasuko Kondo, Seiji Kondo, Yukihiro Fujii
- ⑦ INHIBITION OF TEMOZOLOMIDE-INDUCED AUTOPHAGY ENHANCES THE CYTOTOXIC EFFECT ON MALIGNANT GLIOMAS. The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2009, Hiroshi Aoki, Naoki Shinojima, Yasuko Kondo, Seiji Kondo, Yukihiro Fujii
- ⑧ Selective H<sup>+</sup>-ATPase inhibitor prevents the completion of autophagy induced by Temozolomide and emphasizes cytotoxicity in glioma cells. The 3rd Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology, 2009, Hiroshi Aoki, Naoki Shinojima, Yasuko Kondo, Seiji Kondo, Yukihiro Fujii

〔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◇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

青木 洋 （ AOKI HIROSHI ）

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：30515771

### (2) 研究分担者

（ ）

研究者番号：

### (3) 連携研究者

（ ）

研究者番号：