

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 25 年 5 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591615

研究課題名（和文）脳内移植モデルを用いたリンパ腫の浸潤機構の解明と新規治療の考案

研究課題名（英文）Investigation of the molecular mechanism of invasion in CNS lymphoma using inoculation animal models in the brain and development of novel treatment

研究代表者

牧野 敬史（MAKINO KEISHI）

熊本大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90381011

研究成果の概要（和文）：脳原発悪性リンパ腫の増殖、浸潤に関与する分子を探索する目的で、臨床サンプルを用いて、細胞の代謝に関与する glucose transporter 1(Glut1)、fatty acid synthase(FAS)、接着や浸潤に関与する α 2,6-sialyltransferase の発現解析をそれぞれの抗体を使った免疫組織染色にて行った。 α 2,6-sialyltransferase は、脳原発リンパ腫 25 例中 23 例、全身性リンパ腫脳内浸潤 9 例すべてに陽性であった。さらに FAS の発現は解析した 27 例中 70.3% に認め、Glut1 は 44.4% に発現していた。これらの分子は、悪性リンパ腫において新たな治療標的になりうることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In order to identify the molecules related to growth and invasion of central nervous system (CNS) lymphoma, we investigated the expression of glucose transporter 1 (Glut 1), fatty acid synthase (FAS) and α 2, 6-sialyltransferase. We performed immunohistochemical analysis using specific antibodies for each molecule. In twenty-three of twenty-five cases with CNS lymphomas and all nine cases with CNS invasion of systemic lymphoma, positive expression of α 2,6-sialyltransferase was found. Furthermore, positive expression of FAS was found in 70.3 % and that of Glut 1 was found in 44.4 % of twenty-seven cases with lymphomas. These data suggested that these metabolic or invasion related molecules might be novel therapeutic targets for CNS lymphoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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

脳原発悪性リンパ腫は、近年免疫抑制患者

以外の一般人口でも、急激な発生増加が認められる疾患である。しかしながらその生物学

的特徴はよく理解されていない。近年、腫瘍細胞の免疫学的形質、免疫グロブリン遺伝子の解析結果などより胚中心細胞由来であると考えられているが、これまで脳内に胚中心の形成は確認されておらず、その発生・増殖に関わる微小環境はいまだに不明である。さらに、臨床的な特徴の一つに、広範囲に腫瘍が浸潤することで大脳半球の機能が低下し高度の認知障害を生じ、治療後も症状が継続することがある。今後、脳原発悪性リンパ腫に対する有効な治療法を考える上で、腫瘍局所だけではなく脳全体を標的とし、更に組織学的には腫瘍周辺の細胞微小環境、浸潤炎症細胞などを標的とすることが必要であると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 脳原発悪性リンパ腫は、近年急激に発生頻度が増加しており、注目されている疾患である。大量メソトレキセート療法(HD-MTX)と放射線療法の併用により、生存期間は過去の治療成績より延長している。しかし中には耐性を示す例や早期再発を来す例もあるため、その違いを明らかにする。

(2) また初発時に高度の認知障害を生じ治療後も自立した生活ができない例や眼病変を併発し視力低下のため自立できないことも多い。これらの病態はリンパ腫細胞の生物学的特徴である高い浸潤能が関与していると考えられる。よってリンパ腫の浸潤機構および増殖・浸潤に必要な分子や微小環境条件を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 臨床的研究：脳原発悪性リンパ腫の治療に関しては大量メソトレキセート療法が標準的治療として行われているが、治療に抵抗性がある症例、早期に再発・進行を来す症例がみられる。これまでに治療を行った91例の治療成績を検討し、転帰に関わる因子を解析した。

(2) 基礎的研究：増殖、浸潤に関与する分子を探索する目的で、全身性リンパ腫の脳内浸潤例も含め脳内リンパ腫の臨床サンプルを用いて、細胞の代謝に関与する glucose transporter 1(Glut1)、fatty acid synthase (FAS)、接着や浸潤に関与する α 2, 6-sialyltransferase の発現解析をそれぞれの抗体を使った免疫組織染色にて行った。

4. 研究成果

臨床的研究：3コースのHD-MTXが完遂できた例は56例(61.5%)で、進行または副作用

により、それぞれ24例(26.4%)、11例(12.1%)が中止となった。初回治療による寛解は48例、寛解率は52.7%であった。無増悪生存期間(PFS)は、中央値が12.4(0.7-102)ヶ月、5年PFSは24.4%であり、全生存期間(OS)は、中央値が40.6(1.1-106)ヶ月、5年OSは47.6%であった。転帰に関する要因として、年齢(60歳以上)、性別、KPS(50%以上)、多発性、MTX完遂の有無に関し検討したが、全生存期間に対してMTX完遂の有無のみ優位差($p=0.013$)を認めた。この結果、脳原発悪性リンパ腫に対するHD-MTX療法の有用性が示された。今後は、MTX療法を完遂させるための工夫が必要である。

(2) 基礎的研究

① 臨床サンプルにおける α 2, 6-sialyltransferase の発現解析を免疫組織染色にて行った。 α 2,6-sialyltransferase は、脳原発リンパ腫25例中23例、全身性リンパ腫脳内浸潤9例すべてに陽性であった(図1)。 α 2,6-sialyltransferase は乳がん細胞においては血液脳関門の透過性を亢進させ、細胞が脳内に浸潤することに関与することも報告されており、リンパ腫の脳内浸潤に関与する重要な分子であることが示唆された。

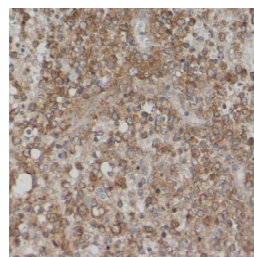


図1： α 2,6-sialyltransferase の組織発現

②細胞の代謝に関与する glucose transporter 1(Glut1)、fatty acid synthase (FAS)の発現解析を免疫組織染色にて行った。FASの発現は解析した27例中70.3%に認め(図2、3)、Glut1は44.4%に発現していたが、脳原発リンパ腫により高頻度に発現していた(図4、5)。これら代謝関連分子は、新たな治療標的分子になりうるものと考えられた。

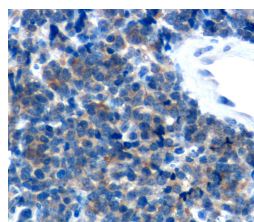


図2：FASの組織発現

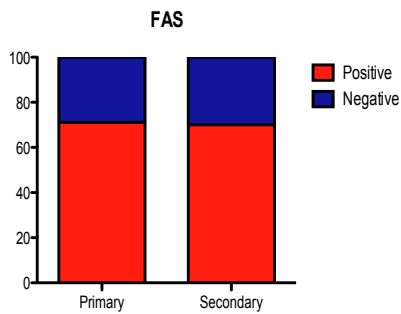


図3 : FAS の発現割合

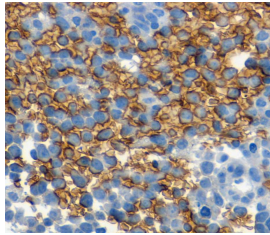


図4 : Glut1 の組織発現

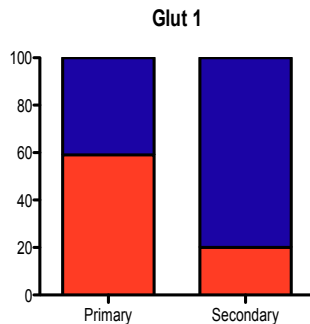


図5 : Glut1 の発現割合

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 18 件)

- ① Hamasaki T, Yamada K, Yano S, Nakamura H, Makino K, Hide T, Hasegawa Y, Kuroda J, Hirai T, Kuratsu J. Higher incidence of epilepsy in meningiomas located on the premotor cortex: a voxel-wise statistical analysis. *Acta Neurochir (Wien)*. 査読有、Dec;154(12):2241-2249. 2012
- ② Makino K, Nakamura H, Hide TI, Yano S, Kuroda JI, Takahashi Y, Iyama KI, Kuratsu JI. Usefulness of immunohistochemical expression analysis of metabolic-related molecules to differentiate between intracranial neoplastic and non-neoplastic lesions. *Brain Tumor*

Pathol. 査読有、2012 Oct 12. [Epub ahead of print]

- ③ Ueda Y, Wei FY, Hide TI, Michiue H, Takayama K, Kaitsuka T, Nakamura H, Makino K, Kuratsu JI, Futaki S, Tomizawa K. Induction of autophagic cell death of glioma-initiating cells by cell-penetrating d-isomer peptides consisting of Pas and the p53 C-terminus. *Biomaterials*. 査読有、33(35): 9061-9069, 2012

- ④ Makino K, Nakamura H, Hide TI, Yano S, Kuroda JI, Iyama KI, Kuratsu JI. Fatty acid synthase is a predictive marker for aggressiveness in meningiomas. *J Neurooncol*. 査読有、109 (2): 399-404, 2012

- ⑤ Makino K, Nakamura H, Hide TI, Kuratsu JI. Salvage treatment with temozolomide in refractory or relapsed primary central nervous system lymphoma and assessment of the MGMT status. *J Neurooncol*. 査読有、106 (1) :155-160, 2012

- ⑥ Hasegawa Y, Morioka M, Makino K, Kai Y, Hamada J, Kuratsu J. Arterial graft to treat ruptured distal middle cerebral artery aneurysms in a patient with mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 査読有、52 (6): 443-445. 2012

- ⑦ Nakamura H, Makino K, Kuratsu JI. Molecular and clinical analysis of glioblastoma with an oligodendroglial component (GBMO). *Brain Tumor Pathol*. 査読有、28(3):185-190, 2011

- ⑧ Komohara Y, Horlad H, Ohnishi K, Ohta K, Makino K, Hondo H, Yamanaka R, Kajiwara K, Saito T, Kuratsu J, Takeya M. M2 macrophage/ microglial cells induce activation of Stat3 in primary central nervous system lymphoma. *J Clin Exp Hematop*. 査読有、51(2): 93-99, 2011.

- ⑨ Makino K, Hirai T, Nakamura H, Murakami R, Kitajima M, Shigematsu Y, Nakashima R, Shiraishi S, Uetani H, Iwashita K, Akter M, Yamashita Y, Kuratsu JI. Does adding FDG-PET to MRI improve the differentiation

between primary cerebral lymphoma and glioblastoma? Observer performance study. Annals of nuclear medicine 査読有、25(6):432-438, 2011

⑩ Nakamura H, Makino K, Ushio Y, Arima R, Kuratsu JI. : Therapy-associated secondary tumors in patients with non-germinomatous malignant germ cell tumors J Neurooncol 査読有105(2):359-364, 2011

⑪ Nakamura H, Makino K, Kochi M, Ushio Y, Kuratsu J. : Evaluation of neoadjuvant therapy in patients with nongerminomatous malignant germ cell tumors Journal of neurosurgery. Pediatrics, 7(4), 査読有、431-438, 2011

⑫ Makino K, Nakamura H, Hide T, Kuratsu J. : Risk of primary childhood brain tumors related to season of birth in Kumamoto Prefecture, Japan Childs Nerv Syst, 査読有 27, 75-78, 2011

⑬ Nakamura H, Makino K, Yano S, Kuratsu JI; Kumamoto Brain Tumor Research Group. : Epidemiological study of primary intracranial tumors: a regional survey in Kumamoto prefecture in southern Japan-20-year study. Int J Clin Oncol. 査読有、314-321, 2011

⑭ Muta D, Makino K, Nakamura H, Yano S, Kudo M, Kuratsu J. : Inhibition of eIF4E phosphorylation reduces cell growth and proliferation in primary central nervous system lymphoma cells J Neurooncol. 査読有、101, 33-39, 2011

⑮ Makino K, Nakamura H, Hide T, Kuratsu J. : Risk of primary childhood brain tumors related to season of birth in Kumamoto Prefecture, Japan Childs Nerv Syst, 査読有、27, 75-78, 2011

⑯ Makino K, Kojima R, Nakamura H, Morioka M, Iyama K, Shigematsu K, Kuratsu J. : Ectopic adrenal cortical adenoma in the spinal region: case report and review of the literature. Brain Tumor Pathol 査読有、27(2), 121 - 125, 2010

⑰ Makino K, Nakamura H, Yano S, Kuratsu JI. : Population-based epidemiological study of primary intracranial tumors in childhood Childs Nerv Syst, 査読有、Aug;26(8):1029-1034, 2010

⑱ Hamasaki K, Nakamura H, Ueda Y, Makino K, Kuratsu J. : Radiation-induced glioblastoma occurring 35 years after radiation therapy for medulloblastoma: case report. Brain Tumor Pathol 査読有、27(1), 39 - 43, 2010

[学会発表] (計 18 件)

① 牧野敬史、退形成性乏突起膠腫および乏突起星細胞腫における α -Internexin の発現解析、第 30 回日本脳腫瘍学会学術総会、2012. 11. 26、グランドプリンスホテル広島 (広島)

② 牧野敬史、中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する大量メソトレキセート療法による治療成績の検討、社団法人日本脳神経外科学会第 71 回学術総会、2012. 10. 19、大阪国際会議場 (大阪)

③ Makino K, Outcome of Supratentorial primitive neuroectodermal tumors in Kumamoto University Hospital, Kumamoto, Japan, 15th International Symposium on Pediatric Neuro - Oncology, 2012. 6. 24, Toronto (Canada)

④ 牧野敬史、中枢神経原始神経外胚葉性腫瘍に対する治療成績の検討、第 40 回日本小児神経外科学会、2012. 6. 8、岡山コンベンションセンター (岡山)

⑤ 牧野敬史、頭蓋内非腫瘍性病変の鑑別診断における変異型 IDH1 抗体を用いた免疫組織染色の有用性の検討、第 30 回日本脳腫瘍病理学会、2012. 5. 26、名古屋国際会議場 (名古屋)

⑥ Makino K, Usefulness of immunohistochemistry using mutant IDH1 antibody to differentiate intracranial nonneoplastic lesions, 9th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology, 2012. 4. 21, Taipei (Taiwan)

⑦ 牧野敬史、脳内悪性リンパ腫における glucose transporter と fatty acid synthase

の発現解析、第29回日本脳腫瘍学会学術総会、2011.11.28、下呂温泉水明館（岐阜）

⑧ Makino K, Significance of fatty acid synthase expression in meningioma, The 12th Young – Honam and Kyushu Neurosurgical Joint Meeting in Kitakyushu, 2011.11.12, Rihga Royal Hotel Kokura (Fukuoka)

⑨ 牧野敬史、悪性脳腫瘍におけるfatty acid synthaseの発現とその意義、第12回日本分子脳神経外科学会、2011.10.14、パシフィコ横浜（神奈川県）

⑩ 牧野敬史、悪性脳腫瘍におけるfatty acid synthaseの発現とその意義、社団法人日本脳神経外科学会 第70回学術総会 2011.10.12、パシフィコ横浜（神奈川県）

⑪ Makino K, Investigation of fatty acid synthase expression in glioblastomas, International Symposium on Clinical and Basic Investigation in Glioblastoma, II Symposium Seve Ballesteros Foundation, 2011. 2011.6.24, Valencia (Spain)

⑫ Makino K, Significance of fatty acid synthase expression in meningioma, 8th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology, 2011.5.27, Suzhou (China)

⑬ 牧野敬史、髄膜腫におけるfatty acid synthaseの発現とその意義、第29回日本脳腫瘍病理学会、2011.5.20、タワーホール船堀（東京）

⑭ 牧野敬史、二次性脳内悪性リンパ腫の治療成績の検討、2010.11.29、軽井沢プリンスホテル（長野）

⑮ 牧野敬史、髄芽腫長期生存例の解析、第69回日本脳神経外科学会学術総会、2010.10.27、福岡コンベンションセンター（福岡）

⑯ Makino K, Treatment results of childhood pilocytic astrocytoma in Kumamoto, Japan, The 14th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology, 2010.6.21, Vienna (Austria)

⑰ Makino K, Expression analysis of sialyltransferase in metastatic brain tumor and CNS lymphoma, 7th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology, 2010.6.10, Seoul (Korea)

⑱ 牧野敬史、脳リンパ腫における α 2,6-sialyltransferaseの発現解析、第28回日本脳腫瘍病理学会、2010.5.22、大阪市中央公会堂（大阪）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 敬史 (MAKINO KEISHI)
熊本大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：90381011

(2) 研究分担者

倉津 純一 (KURATSU JUNICHI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：20145296

中村 英夫 (NAKAMURA HIDEO)
熊本大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：30359963

秀 拓一郎 (HIDE TAKUICHIRO)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：40421820