

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670623

研究課題名(和文)MSイメージングを用いたグリオーマ悪性転化マーカー同定の挑戦

研究課題名(英文)MS imaging Analysis to identify protein expressions regulating malignant transformation in glioma

研究代表者

宮本 享(Susumu, Miyamoto)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70239440

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文):本研究計画は、高感度MSイメージングを駆使してグリオーマの悪性転化に関わる候補分子を抽出、抽出した候補分子から悪性転化マーカーを同定、候補分子の詳細な解析からグリオーマ悪性転化の新規分子機構にアプローチすることを目的とした。グリオーマ患者標本から、高感度MSイメージングに適した前処理の条件検討を行い、イメージング可能な条件を設定することに成功した。さらに、高感度MSイメージングで同定した標的部位の組織採集から質量分析解析を行う前処理の条件検討を行った。その結果、グリオーマで発現が亢進する既知のタンパクを同定した。

研究成果の概要(英文):The aim of the research project is to screen protein expressions associated with malignant transformation in glioma, to identify the driver proteins, and to reveal the novel mechanism. We evaluated the pretreatment conditions for MS imaging and visualized the protein expressions of clinical samples. To identify the proteins detected by MS imaging, the pretreatment conditions for LC/MS/MS analysis was examined. As preliminary results, we identified some proteins which has been known to be involved in gliomagenesis.

研究分野：脳神経外科

キーワード：神経膠腫 悪性転化 MSイメージング 質量分析

1. 研究開始当初の背景

近年、悪性グリオーマではゲノムワイド変異解析から、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 1 型遺伝子 (IDH1) の体細胞変異が発見された。IDH1 変異は低悪性度グリオーマから悪性転化した腫瘍に高頻度に認められ、グリオーマ発生に関わる分子機構に大きなインパクトを与えた。一方で、ゲノムワイド変異解析で抽出できない変異遺伝子の存在が指摘されている。従来のグリオーマ解析では正常細胞混入のために変異遺伝子や細胞内シグナル異常が検出できない問題もある。質量顕微鏡は Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI) による解析を二次元化し、微小な組織の質量分析や高精度な MS イメージング解析が行える。悪性腫瘍領域で質量顕微鏡を用いた解析が進みつつあるが、未だに低悪性度グリオーマの悪性転化マーカーを標的とした高感度質量顕微鏡で解析した知見はなく、新たな発見の可能性がある。

2. 研究の目的

本研究計画では、低悪性度グリオーマを用いた高感度質量顕微鏡による MS イメージングを進め、悪性転化に関わる候補分子を抽出し、悪性転化マーカーを同定することを目的とした。低悪性度グリオーマでは局所悪性化を有する腫瘍組織があり、同一標本内での詳細な MS イメージングで悪性転化に関する分子群を同定できる可能性が高い。複数の悪性転化に関する分子群の同定から、マーカー分子に標的を絞ったゲノムワイド解析を行い、新規に悪性転化の分子機構を解明する。

3. 研究の方法

高感度 MS イメージングの条件検討

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE : Formalin-Fixed Paraffin Embedded) された神経膠腫標本を高感度 MS イメージングで解析するための前処理の条件を検討した。

質量分析の条件検討

ホルマリン固定パラフィン包埋標本を質量分析するために、より多くのペプチドから分子同定に至る前処理の条件を検討した。

高感度 MS イメージングによる悪性転化関連分子の抽出

高感度 MS イメージングを駆使して低悪性度グリオーマの悪性転化に関わる候補分子の抽出を行った。膠芽腫のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて高感度質量顕微鏡

を用いて MS イメージングを行った。HE 所見、ki-67 などの組織所見を標識として Data をスペクトル情報に分解し、候補分子スペクトルを多変量解析プロトコルで解析した。これらの作業過程から膠芽腫で優位に上昇、減少している候補分子群を網羅的に抽出した。

4. 研究成果

グリオーマ患者標本から、高感度 MS イメージングに適した前処理の条件検討を行い、イメージング可能な条件を設定することに成功した。さらに、高感度 MS イメージングで同定した標的部位の組織採集から質量分析解析を行う前処理の条件検討を行った。その結果、グリオーマで発現が亢進する既知のタンパクを同定した。

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 9 件)

論文発表

Manabu Kanemoto, Mitsuaki Shirahata, Akiyo Nakauma, Katsumi Nakanishi, Kazuya Taniguchi, Yoji Kukita, Yoshiki Arakawa, Susumu Miyamoto and Kikuya Kato. Prognostic prediction of glioblastoma by quantitative assessment of the methylation status of the entire MGMT promoter region. BMC Cancer 14:641, 2014

Rika Inano, Naoya Oishi, Takeharu Kunieda, Yoshiki Arakawa, Yukihiro Yamao, Sumiya Shibata, Takayuki Kikuchi, Hidenao Fukuyama, Susumu Miyamoto. Voxel-based clustered imaging by multiparameter diffusion tensor images for glioma grading. NeuroImage: Clinical 5:396-407, 2014

Tsubasa Watanabe, Takashi Mizowaki, Yoshiki Arakawa, Yusuke Iizuka, Kengo Ogura, Katsuyuki Sakanaka, Susumu Miyamoto, Masahiro Hiraoka. Pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation: Treatment outcomes of five cases. Molecular and Clinical Oncology 2(2):197-202, 2014

Yukihiro Yamao, Riki Matsumoto, Takeharu Kunieda, Yoshiki Arakawa, Katsuya Kobayashi, Kiyohide Usami, Sumiya Shibata, Takayuki Kikuchi, Nobukatsu Sawamoto, Nobuhiro Mikuni, Akio Ikeda, Hidenao Fukuyama, Susumu Miyamoto. Intraoperative dorsal language network mapping by using single-pulse electrical stimulation. Hum Brain Mapp. 35(9):4345-61, 2014

Takahide Kakigi, Tomohisa Okada, Mitsunori Kanagaki, Akira Yamamoto, Yasutaka Fushimi, Ryo Sakamoto, Yoshiki Arakawa, Yoshiki Mikami, Taro Shimono, Jun C. Takahashi, Kaori Togashi Quantitative imaging values of CT, MR, and FDG-PET to differentiate pineal parenchymal tumors and germinomas: are they useful? *Neuroradiology* 56(4):297-303, 2014

Ryo Sakamoto, Tomohisa Okada, Mitsunori Kanagaki, Akira Yamamoto, Yasutaka Fushimi, Takahide Kakigi, Yoshiki Arakawa, Jun C Takahashi, Yoshiki Mikami, Kaori Togashi. Estimation of proliferative potentiality of central neurocytoma: correlational analysis of minimum ADC and maximum SUV with MIB-1 labeling index. *Acta Radiologica*. 2014

Tsubasa Watanabe, Takashi Mizowaki, Yoshiki Arakawa, Yusuke Iizuka, Kengo Ogura, Katsuyuki Sakanaka, Susumu Miyamoto, Masahiro Hiraoka. Pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation: Treatment outcomes of five cases. *Molecular and Clinical Oncology*, 2013

Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Daiki Murata, Koichi Fujimoto, Takayuki Kikuchi, Takeharu Kunieda, Jun C. Takahashi, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Retrospective Analysis of Bevacizumab in Combination with Ifosfamide, Carboplatin, and Etoposide in Patients with Second Recurrence of Glioblastoma. *Neurologia medico-chirurgica* 53(11):779-85, 2013

Kengo Ogura, Takashi Mizowaki, Yoshiki Arakawa, Katsuyuki Sakanaka, Susumu Miyamoto, Masahiro Hiraoka. Efficacy of salvage stereotactic radiotherapy for recurrent glioma: impact of tumor morphology and method of target delineation on local control. *Cancer Medicine*, 2(6):942-949, 2013

[学会発表](計8件)

Yoshiki Arakawa, Katsutsugu Umeda, Ken-ichiro Watanabe, Takashi Mizowaki, Masahiro Hiraoka, Hideo Hiramatsu, Souichi Adachi, Takeharu Kunieda, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto "Efficacy of bevacizumab plus irinotecan in children with recurrent or progressive malignant glioma" 16th International Symposium on Pediatric

Neuro-Oncology (ISPN0), June 29 (28 June - 02 July 2014), 2014 Singapore Yoshiki Arakawa, Yoo Kang, Daiki Murata, Ko-ichi Fujimoto, Susumu Miyamoto "Endoscopic surgery for intraventricular and paraventricular tumors" The 4th Quadrennial World Federation of Neuro-Oncology (WFNO) meeting and 18th Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, November 22(21-24), 2013

Yoshiki Arakawa, Yoo Kang, Daiki Murata, Ko-ichi Fujimoto, Susumu Miyamoto. Endoscopic surgery for intraventricular and paraventricular tumors. The Society for Neuro-Oncology's 18th Annual Scientific Meeting The 9th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology 2013/11/22 San Francisco

Ko-ichi Fujimoto, Yoshiki Arakawa, Daiki Murata, Yuji Nakamoto, Tomohisa Okada, Susumu Miyamoto. MRI changes associated with bevacizumab differ between tumor recurrence and cerebral radiation necrosis. The Society for Neuro-Oncology's 18th Annual Scientific Meeting The 9th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology 2013/11/23 San Francisco

Yoshiki Arakawa, Tomokazu Aoki, Takashi Mizowaki, Jun Takahashi, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Salvage effect of bevacizumab combination in patients with relapsing glioblastoma resistant to low-dose ICE. The 10th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology, 2013/3/21 Mumbai

Daiki Murata, Yoshiki Arakawa, Yukihiro Yamao, Junya Shibata, Takayuki Kikuchi, Takeharu Kunieda, Masato Hojo, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. SLF tractography in surgery of glioma near the language system. The 10th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology, 2013/3/21 Mumbai

藤本浩一 荒川芳輝 矢島由佳 鶴山竜昭 福井伸行 村田大樹 國枝武治 高木康志 松田文彦 宮本享 質量顕微鏡を用いたグリオーマのプロテオーム解析 第15回日本分子脳神経外科学会 2014/9/25-26 山形市

藤本浩一 荒川芳輝 矢島由佳 鶴山竜昭 福井伸行 劉濱 村田大樹 松田文彦 宮本享 質量顕微鏡を用いたグリオーマのプロテオーム解析 第32

回特定非営利活動法人日本脳腫瘍学会
学術集会 2014/11/30-12/2 浦安市

〔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0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://neurosor.kuhp.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮本 享 (Susumu Miyamoto)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70239440

(2)研究分担者

荒川 芳輝 (Yoshiki Arakawa)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：20378649

(3)連携研究者

松田 文彦 (Fumihiko Matsuda)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：50212220