

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462187

研究課題名(和文) がん幹細胞特異抗体を用いた悪性膠芽腫に対する分子標的療法の開発

研究課題名(英文) Target therapy for high grade glioma by using specific antibody against glioma stem cell

研究代表者

鰐淵 昌彦 (Wanibuchi, Masahiko)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30343388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：神経膠腫に対する治療の標的となる分子を探索し、悪性神経膠腫で高発現のものを同定した。細胞骨格を形成するactin, alpha cardiac muscle 1 (ACTC1)は神経膠腫の予後と関連し、腫瘍の浸潤に関与することを明らかにした。研究成果はJournal of Neurosurgery 2017に掲載された。また、interleukin 13 receptor alpha 2という分子も悪性神経膠腫に高発現で予後と関連することを同定し、Journal of Neurosurgical Sciences 2017に掲載予定である。

研究成果の概要(英文)：Target molecules for therapy of gliomas were identified in our study. Actin, alpha cardiac muscle 1 (ACTC1) which was a part of cytoskeletons became a marker of poor prognosis of gliomas. In glioblastoma which median survival was only one year, the difference of overall survival was over two years by presence or absence of ACTC1. ACTC1 was also related to the tumor invasion in high grade gliomas. These results were presented on Journal of Neurosurgery 2017 which was one on top journals in the field of neurosurgery. In addition, interleukin 13 receptor alpha 2 was also related to the poor prognosis in high grade gliomas. This identification will be on Journal of Neurosurgical Sciences in 2017.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：脳腫瘍 神経膠腫 膠芽腫 ACTC1 IL13R alpha 2 予後 浸潤 細胞骨格

1. 研究開始当初の背景

原発性脳腫瘍のうち、グリオーマは24.1%と最多を占める（日本脳腫瘍全国統計、2001 - 2004）。特に、最も悪性度の高いWHO grade IV に分類される膠芽腫（glioblastoma: GBM）の治療予後は現在においても非常に不良であり、5年生存率は10.1%と非常に予後不良な疾患である。

近年、他のがん腫では、有効な分子標的療法が確立されてきており、GBMについてもその確立は急務である。GBMの治療抵抗性や再発にがん幹細胞の関与が示唆されており、がん幹細胞をターゲットとした分子標的療法の開発によって飛躍的な治療の躍進に期待が高まっている。

我々は、がん幹細胞に特異的に発現する蛋白質として、MCSP(melanoma-associated chondroitin sulfate proteoglycan)およびIL13Rα2に着目した。両者ともに正常脳ではほとんど発現がないのに対し、GBMでは60-80%という高率で発現が観察されることが明らかとなっている。

また、現在、明らかになっている神経膠腫の予後規定因子として、MGMT (O(6)-methylguanine methyltransferase)のメチル化の有無、および、IDH1/2 (isocitrate dehydrogenase)の変異があるが、年単位の予後延長のためには、新たな視点からのバイオマーカーの確立と、その分子に対する特異的阻害作用を有する分子標的薬の開発に期待が高まっている。

悪性神経膠腫が予後不良である理由として、増殖能のみならず、強い浸潤能が挙げられる。現在まで浸潤に関与する分子は未同定で、それを制御する方法もないと考えられている。

2. 研究の目的

既存の治療法では予後が不良な悪性脳腫瘍に対する革新的な治療法の開発は急務である。

本研究では、(1)がん幹細胞に特異的に発現する蛋白質であるMCSPとIL13α2のGBMのバイオマーカーとしての有用性を検討すること、(2)さらに、GBMの浸潤能に着目したバイオマーカーとして利用できる分子の探索を行なうことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) MCSPとIL13α2の解析

52のグリオーマ症例(WHO Grade : 4例、 : 9例、 : 12例、 : 27例)を対象とし、手術検体のパラフィン包埋組織からRNAを抽出し、MCSPおよびIL13Rα2の発現をqRT-PCRで定量解析を行ない、さらに生存期間解析を行った。

(2) 浸潤能に着目したバイオマーカー

浸潤能に関連した分子としてACTC1 (actin, alpha cardiac muscle 1) に注目した。47のグリオーマ症例(WHO Grade : 4例、 : 12例、 : 6例、 : 25例)を対象とし、手術検体のパラフィン包埋組織からRNAを抽出し、ACTC1の発現をqRT-PCRで定量解析を行ない、さらに画像解析および生存期間解析を行った。

4. 研究成果

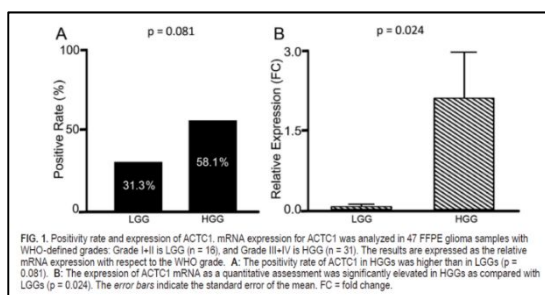
(1) MCSPとIL13α2の解析 (Wanibuchi et al., J Neurosurg Sci, in press)

52手術検体のパラフィン包埋組織から抽出したRNAのqRT-PCRを用いた定量解析の結果、MCSPはWHO grade II, III, IVの神経膠腫では発現が少なく、一方、IL13Rα2は悪性度が高くなるにつれ発現が高くなることが判明した。

生存期間解析の結果、IL13Rα2の発現が高い悪性神経膠腫は予後不良で生存期間中央値（median overall survival: mOS）が18.6ヶ月であったのに対し、低発現のものは予後が比較的良好でmOSは186.4ヶ月であった（ $p = 0.033$ ）。このことより、IL13Rα2は予後マーカーとなることが判明した。

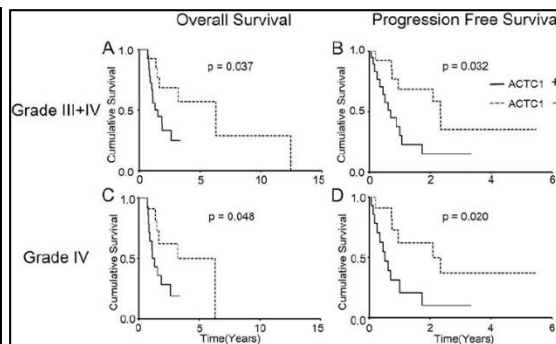
（2）浸潤能に着目したバイオマーカー（Ohtaki et al., J Neurosurg, 2017）

47手術検体のパラフィン包埋組織から抽出したRNAのqRT-PCRを用いた定量解析の結果、ACTC1はhigh grade (WHO III-IV)のグリオーマでの発現が、low grade (WHO I-II)に比較して、有意に高いことが判明した。



（Ohtaki et al., J Neurosurg, 2017）

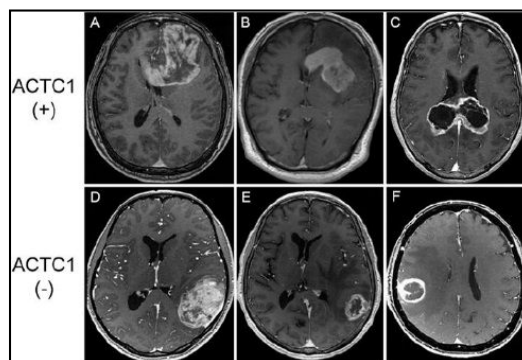
Grade IIIとIV、またはgrade IV単独で、ACTC1の発現による全生存率中央値・無増悪生存期間中央値をカプランマイヤー解析



により検討した。ACTC1陽性であれば、同じgradeでも陰性のものに比較し、生存が短いことが判明し、ACTC1は強く予後と相関することが判明した。

（Ohtaki et al., J Neurosurg, 2017）

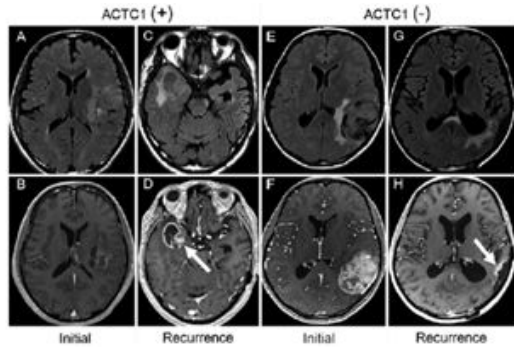
膠芽腫症例の初発時画像を検討すると、ACTC1陽性の腫瘍は、初発時から対側へ浸潤しているが（A, B, C）、陰性の腫瘍は脳



表で、局所的に腫瘍を形成していた（D, E, F）。（Ohtaki et al., J Neurosurg, 2017）

Grade IV症例の再発時画像を検討すると、初発時は左に発生していた腫瘍が（A, B）、再発時は対側の右側頭葉（遠隔部）に腫瘍を形成（C, D）していた。一方、ACTC1陰性の腫瘍は、初診時に脳表近傍に存在しており（E, F）、再発時も局所に

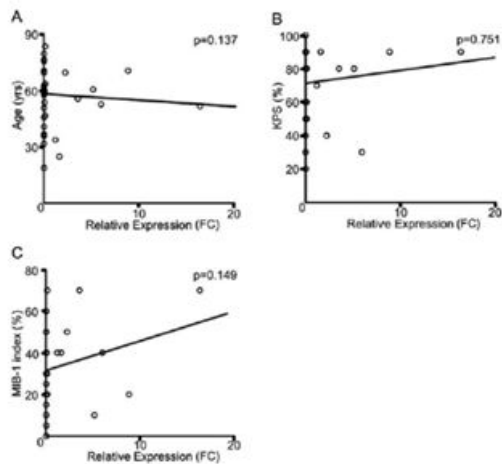
留まっていることが明らかとなった (G, H). 初発, および再発時の画像所見より, ACTC1はグリオーマの浸潤マーカーであることが判明した.



(Ohtaki et al., J Neurosurg, 2017)

ACTC1の発現は, 予後と相関する年齢やKarnofsky performance status, 増殖能と相関するMIB-1 indexとは無関係であり, 独立した予後因子であると推察された.

(Ohtaki et al., J Neurosurg, 2017)



以上のように、補助金は有効に使用された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Ohtaki S, Wanibuchi M, Kataoka-Sasaki Y, Sasaki M, Oka S, Noshiro S, Akiyama Y, Mikami T, Mikuni N, Kocsis JD, Honmou O. ACTC1 as an invasion and prognosis marker in glioma. J Neurosurg 126: 467-475, 2017, 査読有

Wanibuchi M, Kataoka-Sasaki Y, Sasaki M, Oka S, Otsuka Y, Yamaguchi M, Ohnishi H, Ohtaki S, Noshiro S, Ookawa S, Mikami T, Mikuni N, Honmou O. Interleukin-13 Receptor Alpha 2 as a Marker of Poorer Prognosis in High-Grade Astrocytoma. J Neurosurg Sci 2017 査読有 (in press)

〔学会発表〕(計3件)

鰐淵昌彦、大瀧隼也、佐々木優子、佐々木祐典、秋山幸功、三國信啓、Jeffery D. Kocsis、本望修。悪性グリオーマの浸潤因子解析。第21回日本脳腫瘍の外科学会。2016年9月9日-9月10日、虎ノ門ヒルズフォーラム(東京都港区)

鰐淵昌彦、大瀧隼也、佐々木優子、佐々木祐典、秋山幸功、三國信啓、Jeffery D. Kocsis、本望修。ACTC1は悪性グリオーマの浸潤・予後マーカーである。第75回日本脳神経外科学会 学術集会 2016年9月29日-10月1日、福岡国際会議場他(福岡県福岡市)

鰐淵昌彦、大瀧隼也、佐々木優子、佐々木
祐典、秋山幸功、三國信啓、Jeffery D.
Kocsis、本望修。ACTC1 は高悪性度グリオ
ーマの新たな予後・浸潤因子である。第 34
回 日本脳腫瘍学会 学術集会 2016 年 12 月 4
日—12 月 6 日、甲府富士屋ホテル（山梨県
甲府市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

【特許出願】

名称：グリオーマの予後を判定する方法及び
判定するためのキット

発明者：本望修、鰐淵昌彦、大瀧隼也、佐々
木祐典、佐々木優子、三國信啓

権利者：北海道公立大学法人札幌医科大学

種類：特許

番号：特願2015-151838

出願年月日：平成27年7月31日

国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鰐淵 昌彦（Wanibuchi, Masahiko）

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30343388

(2) 研究分担者

本望 修（Honmou, Osamu）

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：90285007

三國 信啓（Mikuni, Nobuhiro）

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：60314217

鳥越 俊彦（Torigoe, Toshihiko）

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：20301400

佐々木 祐典（Sasaki, Masanori）

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：20538136

山口 美樹（Yamaguchi, Miki）

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：10530454

(3) 連携研究者

なし