

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K09006

研究課題名(和文)細胞外エクソソームによるSurvivin発現の制御機構の解明と治療・診断への応用

研究課題名(英文)Elucidation of control mechanism of Survivin expression by extracellular exosome and its application to therapy / diagnosis

研究代表者

齋藤 太一 (Saito, Taiichi)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：40457247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々はグリオーマ症例(WHO悪性度分類 grade 2～4)と健常成人ボランティアの血清におけるnestinの濃度をELISA法を用いて測定し比較検討した。術前grade 4の悪性グリオーマ患者血清のnestin濃度が平均1.04ng/ml(0.0-10.0)であったのに対し、健常成人ボランティアでは0.15ng/ml(0-0.90)と、統計学的に有意差を認めた($p < 0.05$)。血清nestin濃度によるgrade4の悪性グリオーマ症例と健常成人ボランティアを鑑別するROC解析では0.63ng/mlをカットオフ値とした時にAUC=0.85と高い検出率で鑑別が可能であった($p < 0.0001$)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の検討では、血清nestin濃度がgrade4のグリオーマ患者と健常成人ボランティアとの鑑別に有用であることが示され、血清中nestinのバイオマーカーとしての意義の解明に有用な結果を得ることができた。今後の検討で血清中nestin濃度測定が、悪性グリオーマ患者の術前診断、あるいは治療中の効果判定に用いることが可能となれば、悪性グリオーマの早期発見、病状の判定に有用であり、悪性グリオーマの治療成績向上において社会的意義があるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：We measured and compared nestin concentrations in the sera of glioma cases (WHO grade 2-4) and healthy adult volunteers using the ELISA method. Preoperative serum nestin levels in patients with grade 4 malignant glioma averaged 1.04 ng/ml (0.0-10.0) compared with 0.15 ng/ml (0-0.90) in healthy adult volunteers, which was statistically significant ($p < 0.05$). In the ROC analysis that discriminates grade 4 malignant glioma cases from healthy adult volunteers based on serum nestin concentration, a high detection rate of AUC = 0.85 was possible with a cutoff value of 0.63 ng/ml ($p < 0.0001$).

研究分野：脳腫瘍学

キーワード：Survivin Nestin Glioma 血清濃度 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪性グリオーマは治療抵抗性の腫瘍である。現在の標準的治療は放射線治療と DNA アルキル化剤テモゾロミド (TMZ) の併用療法である。しかし TMZ による生存期間の延長効果は、わずか 2.5 ヶ月であり十分な効果は得られおらず、新たな治療戦略が求められる。また血液検査で腫瘍の診断が可能となれば早期発見につながり、予後の改善が期待される。

TMZ のグリオーマ細胞に対する作用の大半は G2 期細胞周期停止を介した分裂障害に伴う“分裂期細胞死”である。Survivin は正常細胞には殆ど発現が認められず、悪性腫瘍において特異的に高発現している。Survivin は細胞分裂において重要な調節機能を持つ。我々は Survivin の阻害によっても TMZ と同様に分裂期細胞死が誘導されることを報告しており、TMZ の殺細胞効果を増強し得ると考えている。近年、腫瘍細胞から分泌されるエクソソーム (細胞外小胞) は蛋白質を内包し、周辺細胞とのコミュニケーションの手段として腫瘍の微小環境を制御していることが注目されている。大腸癌や乳癌では、患者血清から検出されたエクソソーム内の Survivin 蛋白質の発現量が診断や予後のバイオマーカーとなり得ることが報告されている。

2. 研究の目的

悪性グリオーマにおいては、有用な血清バイオマーカーが存在しないため、我々は当初、術前に回収した患者血清中の survivin 濃度が、悪性グリオーマのバイオマーカーとして有用であるかどうか検討することを目的とした。しかし survivin は構造上、血清中では不安定なためか、ELISA 法を用いて発現を解析したところ、非常に濃度が低く解析することが不可能であることが判明した。

そこで次に、以前より注目していた nest in 蛋白質の血清中濃度を測定し、解析することに切り替えた。したがって、本研究の最終的な目的は、患者血清中から回収した nest in 濃度の測定が、術前診断、治療効果判定の指標等、悪性グリオーマのバイオマーカーとして有用であるかどうかを検証することである。

3. 研究の方法

(1) グリオーマ症例 (WHO 悪性度分類 grade 2~4) 37 例に対して術前採血を行い、さらに比較対象として健常成人ボランティア 27 例の採血も行い、血清中 nest in 濃度を ELISA 法を用いて測定し、比較検討した。有意差がある場合、ROC 解析を行い、悪性グリオーマ症例と健常成人ボランティアを識別するための最適なカットオフ値を算出することとした。

(2) Grade 4 の悪性グリオーマ患者において可能な症例に対しては、術前と手術 4 週間後で血清中 nest in 濃度を測定し、手術で腫瘍を摘出することで、血清中 nest in 濃度が変化するかどうかについて検証した。

(3) 当初の解析対象蛋白である survivin の腫瘍組織における免疫組織化学的染色による発現強度と血清中 nest in 濃度との間に相関関係があるかどうか検証を行った。

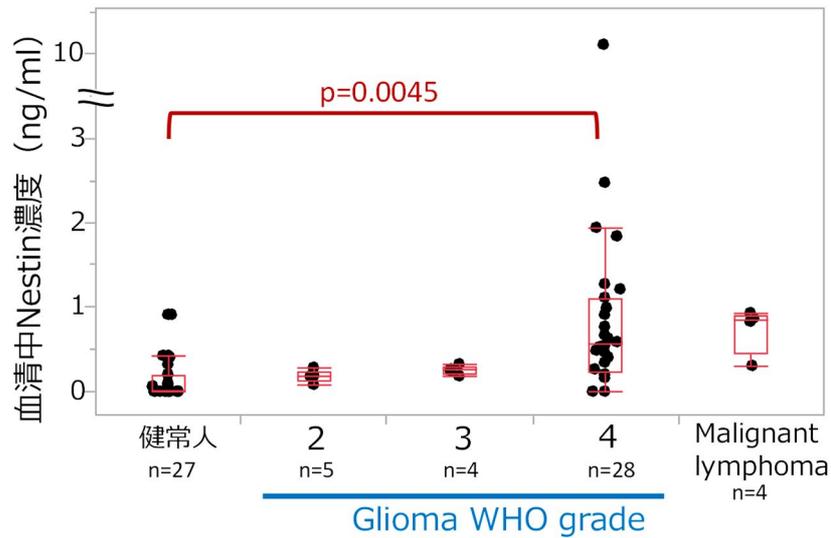
(4) グリオーマの予後因子である Isocitrate dehydrogenase (IDH) 遺伝子変異と nest in の血

清中濃度に相関があるか検証を行った。

4. 研究成果

(1-1) 我々はグリオーマ症例 (WHO 悪性度分類 grade 2~4) と健常成人ボランティアの血清における nestin の濃度を ELISA 法を用いて測定し、比較検討した。ELISA 法では、grade 4 の悪性グリオーマ患者の術前血清の nestin 濃度が平均 1.04ng/ml (range, 0.0-10.0) であったのに対し、健常成人ボランティアでは 0.15ng/ml (0-0.90) と、統計学的に有意差を認めた ($p < 0.05$) (結果 1-1)。

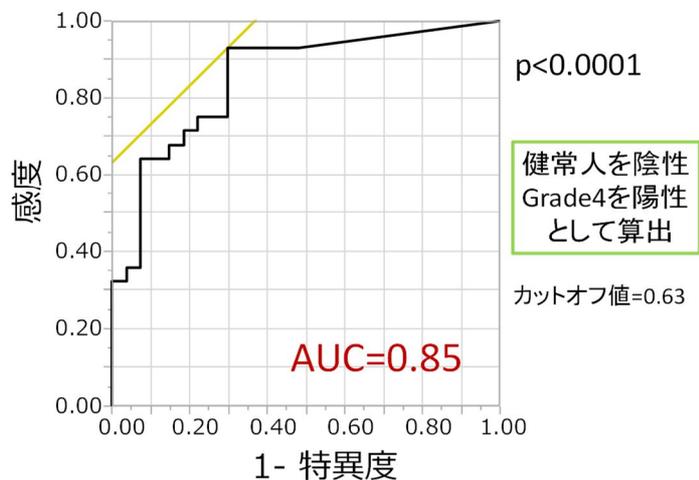
結果 1-1 神経膠腫 grade4 では血清中の nestin 濃度が高値



(1-2) 血清 nestin 濃度による grade4 の悪性グリオーマ症例と健常成人ボランティアを鑑別するための ROC 解析では 0.63ng/ml をカットオフ値とした時に AUC=0.85 と高い検出率で鑑別が可能であることを算出した ($p < 0.0001$)。

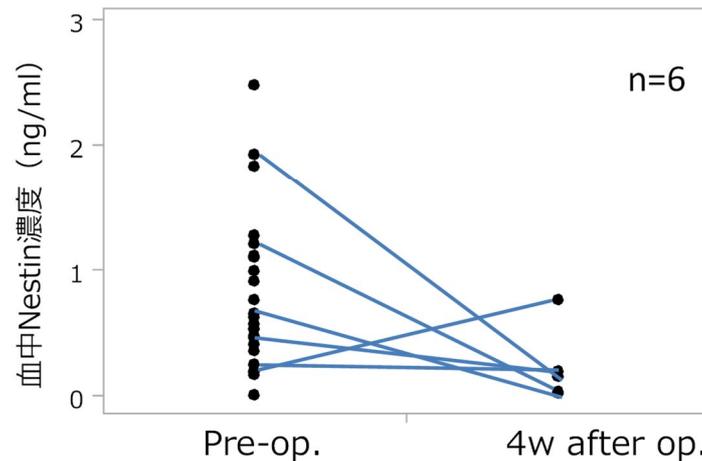
結果 1-2

血清中 nestin 濃度に関する ROC 曲線



(2) Grade 4 の悪性グリオーマ患者血清で術前と手術 4 週間後で nestin 濃度を測定し得た 6 例で検討を行ったところ、6 例中 5 例において術後に血清 nestin 濃度の減少を認めた。

結果 2 神経膠腫grade4では 手術後に血清中のnestin濃度が下がる



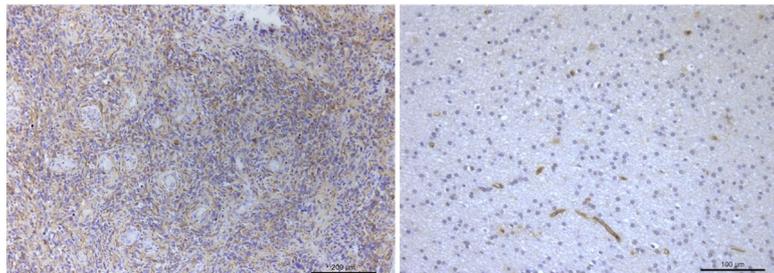
(3) また当初の解析対象蛋白である survivin の腫瘍組織における免疫組織化学染色による発現強度と血清中 nestin 濃度には有意な相関があることも示した。

結果 3 血清中のnestin濃度と腫瘍組織での survivin発現量は相関する

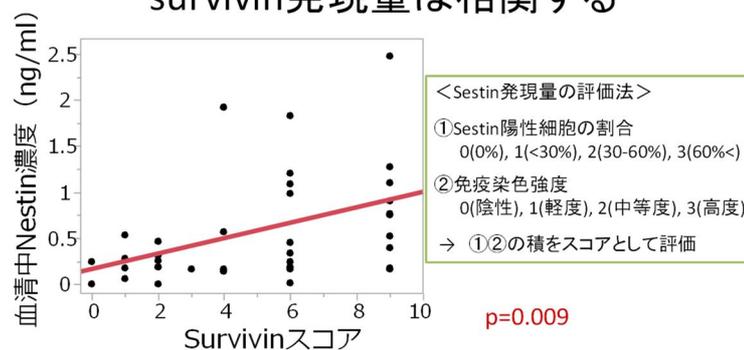
免疫組織化学染色

Grade 4

Grade 2

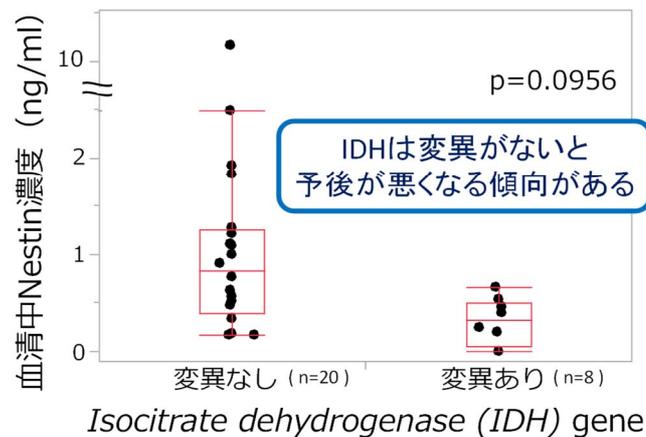


結果 3 血清中のnestin濃度と腫瘍組織での survivin発現量は相関する



(4)さらにグリオーマの予後因子である Isocitrate dehydrogenase(IDH)遺伝子変異と nestin の血清濃度は相関する傾向があることも示した。IDH 遺伝子の変異があるものでは、nestin の血清中濃度が低い傾向を認めた。

結果 4 血性中の nestin 濃度は予後と相関する



(まとめ)本研究の検討では、血清 nestin 濃度が grade4 のグリオーマ患者と健常成人ボランティアとの鑑別に有用であることが示され、血清中 nestin のバイオマーカーとしての意義の解明に有用な結果を得ることができた。また血清中 nestin の発現の調整に、腫瘍組織中の survivin の発現強度が関わっていることが示唆された。また血清中 nestin 濃度が低い方が、予後が良好である傾向も示唆された。今後の検討で血清中 nestin 濃度測定が、悪性グリオーマ患者の術前診断、あるいは治療中の効果判定に用いることが可能となれば、悪性グリオーマの早期発見、病状の判定に有用であり、悪性グリオーマの治療成績向上において社会的意義があるものと考えている。

<引用文献>

Saito T, Hama S, Izumi H, Yamasaki F, Kajiwara Y, Matsuura S, Morishima K, Hidaka T, Shrestha P, Sugiyama K, Kurisu K. Centrosome amplification induced by survivin suppression enhances both chromosome instability and radiosensitivity in glioma cells. Br J Cancer.98(2):345-55, 2018.

Gunaldi M, Isiksacan N, Kocoglu H, Okuturlar Y, Gunaldi O, Topcu TO, Karabulut M. The value of serum survivin level in early diagnosis of cancer. J Cancer Res Ther.14(3):570-573, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 齋藤太一	4. 巻 32
2. 論文標題 【神経解剖を理解した脳腫瘍手術 戦略と合併症対応】脳腫瘍手術戦略 髄内腫瘍(グリオーマ)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 脳神経外科速報	6. 最初と最後の頁 326-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito T, Muragaki Y, Tamura M, Maruyama T, Nitta M, Tsuzuki S, Fukui A, Koriyama S, Kawamata T	4. 巻 165
2. 論文標題 Monitoring Cortico-cortical Evoked Potentials Using Only Two 6-strand Strip Electrodes for Gliomas Extending to the Dominant Side of Frontal Operculum During One-step Tumor Removal Surgery	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Neurosurg	6. 最初と最後の頁 e732-e742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.wneu.2022.06.141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onodera M, Saito T, Fukui A, Nitta M, Tsuzuki S, Koriyama S, Masamune K, Kawamata T, Muragaki Y	4. 巻 Epub
2. 論文標題 The high incidence and risk factors of levetiracetam and lacosamide-related skin rashes in glioma patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Neurol Neurosurg	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clineuro.2022.10736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito T, Muragaki Y, Maruyama T, Abe K, Komori T, Amano K, Eguchi S, Nitta M, Tsuzuki S, Fukui A, Kawamata T.	4. 巻 44
2. 論文標題 Mucosal thickening of the maxillary sinus is frequently associated with diffuse glioma patients and correlates with poor survival prognosis of GBM patients: comparative analysis to meningioma patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosurgical review	6. 最初と最後の頁 3249 - 3258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10143-021-01490-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito T, Muragaki Y, Tamura M, Maruyama T, Nitta M, Tsuzuki S, Ohashi M, Fukui A, Kawamata T	4. 巻 136
2. 論文標題 Awake craniotomy with transcortical motor evoked potentials monitoring for resection of gliomas within or close to motor related areas: validation of utility for predicting motor function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1052-1061
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taiichi Saito, Yoshihiro Muragaki, Takashi Maruyama, Takashi Komori, Masayuki Nitta, Shunsuke Tsuzuki, Atsushi Fukui, Takakazu Kawamata	4. 巻 43
2. 論文標題 Influence of wide opening of the lateral ventricle on survival for supratentorial glioblastoma patients with radiotherapy and concomitant temozolomide-based chemotherapy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurosurgical review	6. 最初と最後の頁 1583-1593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10143-019-01185-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taiichi Saito, Yoshihiro Muragaki, Manabu Tamura, Takashi Maruyama, Masayuki Nitta, Shunsuke Tsuzuki, Atsushi Fukui, Takakazu Kawamata	4. 巻 134
2. 論文標題 Correlation between localization of supratentorial glioma to the precentral gyrus and difficulty in identification of the motor area during awake craniotomy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1490-1499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Taiichi, Muragaki Yoshihiro, Tamura Manabu, Maruyama Takashi, Nitta Masayuki, Tsuzuki Shunsuke, Fukuchi Satoko, Ohashi Mana, Kawamata Takakazu	4. 巻 15
2. 論文標題 Awake craniotomy with transcortical motor evoked potential monitoring for resection of gliomas in the precentral gyrus: utility for predicting motor function	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2018.11.JNS182609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 9件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 田村学, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 郡山峻一, 川俣貴一
2. 発表標題 覚醒下手術とCCEPモニタリングを併用した優位半球前頭葉弁蓋部に進展する神経膠腫の摘出戦略
3. 学会等名 第31回脳神経外科手術と機器学会 (CNTT2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Saito T, Muragaki Y, Nitta M, Tsuzuki S, Fukui A, Koriyama S, Kawamata T
2. 発表標題 Malignancy index using intraoperative flow cytometry is a valuable prognostic factor for glioblastoma treated with standard chemo-radiotherapy
3. 学会等名 Computer Assisted Radiology and Surgery 36th International Congress and Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 郡山峻一, 桑野淳, 川俣貴一
2. 発表標題 Large sizeの島回神経膠腫に対する積極的摘出と機能温存の両立への挑戦
3. 学会等名 第27回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 田村学, 新田雅之, 都築俊介, 郡山峻一, 川俣貴一
2. 発表標題 優位半球前頭葉弁蓋部に進展する神経膠腫に対する6連strip電極を用いたCCEP測定の実際
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第81 回学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤太一
2. 発表標題 多様な手術支援機器を活用した悪性神経膠腫の手術
3. 学会等名 第42回日本脳神経外科コンgres総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 田村学, 仁木千晴, 新田雅之, 角田明子, 都築俊介, 郡山峻一, 川俣貴一
2. 発表標題 非優位半球側グリオーマに対する覚醒下手術の必要性についての検討
3. 学会等名 第20回日本Awake Surgery学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤太一
2. 発表標題 「グリオーマ手術における手術手技と教育」- 熟練者の技術補完と標準化を目指して -
3. 学会等名 第26回日本脳腫瘍の外科学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 太一, 村垣 善浩, 丸山 隆志, 新田 雅之, 都築 俊介, 福井 敦, 田村 学, 郡山 峻一, 川俣 貴一
2. 発表標題 SCOTプロジェクトにおけるOPeLiNKを活用した情報誘導手術の有用性
3. 学会等名 第39回日本脳腫瘍学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 優位半球前頭葉弁蓋部に進展する神経膠腫に対する6連strip電極を用いたCCEP測定の有用性
3. 学会等名 第26回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 優位半球前頭葉弁蓋部神経膠腫に対する6連strip電極を用いたCCEP測定の有用性
3. 学会等名 第27回日本脳神経モニタリング学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 グリオーマにおけるCT、メチオニンPET所見と1p/19q欠失
3. 学会等名 第44回日本脳神経CI学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 生田聡子, 都築俊介, 福井敦, 小森隆司, 川俣貴一
2. 発表標題 上顎洞の粘膜肥厚の合併は神経膠腫症例に多く膠芽腫症例においては予後不良因子である
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤太一
2. 発表標題 覚醒下手術による言語・運動系機能の温存
3. 学会等名 第40回日本脳神経外科コンgres総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 田村学, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 運動野・錐体路内および近傍部神経膠腫の摘出術における覚醒下手術・経皮質MEPモニタリング併用の有用性
3. 学会等名 第25回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 田村学, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 運動野・錐体路内および近傍部神経膠腫の摘出術における覚醒下手術・経皮質MEPモニタリング併用の有用性
3. 学会等名 第17回日本Awake Surgery学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 術中言語野、運動野の同定が困難となる因子についての検討-20年間のAwake surgeryの経験から得られた知見
3. 学会等名 第79回日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤太一
2. 発表標題 SCOTの状況と他科での応用
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第79回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Saito T, Muragaki Y, Maruyama T, Kawamata T
2. 発表標題 Recommended Practices for Neuro-monitoring in Glioblastoma.
3. 学会等名 Congress of Neurological Surgery Annual Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 標準的治療を受けた膠芽腫症例において術中の広い脳室開放が生存予後に与える影響についての検討
3. 学会等名 第78回日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤太一, 村垣善浩, 丸山隆志, 新田雅之, 都築俊介, 福井敦, 川俣貴一
2. 発表標題 グリオーマ手術における術中フローサイトメトリーの有用性
3. 学会等名 第24回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taiichi Saito Yoshihiro Muragaki Takashi Maruyama Manabu Tamura Masayuki Nitta Takakazu Kawamata
2. 発表標題 COMBINED AWAKE CRANIOTOMY AND TRANSCORTICAL MEP FOR RESECTION OF MOTOR AREA GLIOMAS
3. 学会等名 Society for Neurooncology, 23rd Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岡本 沙織 (Okamoto Saori) (20746763)	東京女子医科大学・医学部・助教 (32653)	
研究分担者	濱 聖司 (Hama Seiji) (40397980)	広島大学・医系科学研究科(医)・研究員 (15401)	
研究分担者	村垣 善浩 (Muragaki Yoshihiro) (70210028)	東京女子医科大学・医学部・教授 (32653)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------