

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007 ~ 2008
課題番号：19591688
研究課題名(和文) 脳原発悪性リンパ腫の予後規定分子の同定と発生母地解明に基づく新規治療の考案
研究課題名(英文) Identification of prognostic molecules of primary central nervous system lymphoma and development of novel treatment based on characterization of its pathogenesis
研究代表者 牧野 敬史 (MAKINO KEISHI) 熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教 研究者番号：90381011

## 研究成果の概要：

脳原発悪性リンパ腫の生物学的特徴を解析する目的で、FDG-PET 検査を行い、そのグルコース代謝を他の脳腫瘍と比較検討した。また生検組織を用いて、リンパ腫発生や固形癌の悪性化に関与する翻訳開始因子 eIF4E の発現を解析した。次にリンパ腫培養細胞株を用いて、eIF4E の活性化酵素である MNKinase の阻害実験を行ったところ、増殖抑制、細胞死誘導がみられた。更に免疫不全マウスにリンパ腫細胞株を移植したモデルを MNKinase 阻害薬にて治療したところ、腫瘍増大抑制効果がみられた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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、悪性リンパ腫、シグナル伝達、トランスレーショナルリサーチ

- |                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| 1. 研究開始当初の背景<br>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。この疾患に対する治療法 |
|-------------------------------------|--|

としては、メソトレキセートを中心とした化学療法が確立しており、一定の効果が期待できるが、治療に対する反応性が非常に乏しい症例や短期間で再発する症例がみられ、その中でも極めて予後不良である一群が存在する。これら予後不良群と著効例群との生物学的な違いは、現時点では全く不明であり、画像診断、病理診断では区別がつかず、その生物学的違いは不明である。また本来リンパ組織が欠如している中枢神経系に発生するリンパ腫の発生母地は不明である。リンパ腫は、脳表や脳室に接した領域に発生することや組織学的には血管周囲腔に浸潤することが多いこと、さらに、剖検脳の組織学的解析等から、MRI 等の画像でみられる範囲より広範囲の脳実質に腫瘍細胞が浸潤していることなど特徴ある発生・進展パターンを示すが、それらの原因や分子メカニズムも不明である。よってその発生母地を明らかにすることは、脳原発リンパ腫の有効な診断法の開発および全身性リンパ腫に対する治療法の脳原発リンパ腫への有効応用、また接着・浸潤機序の解明は、新規治療法の開発に必要であると考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究は近年免疫抑制患者以外の一般人口においても急激な発生増加がみられる脳原発悪性リンパ腫の治療効果に関わる因子や発生母地の解明に関連する分子を見いだし、更に有効な治療法を考案することを目的とした。

(1) 臨床例において、リンパ腫とその他脳腫瘍の生物学的特徴の違いを画像検査、組織検査にて比較検討する。

(2) 脳原発リンパ腫および全身性リンパ腫の違いを分子レベルで解析し、脳原発リンパ腫の発生母地の解明に関わる生物学的特徴を見いだす。

(3) リンパ腫細胞の増殖および脳内への浸潤のメカニズムを分子レベルで解析する。

以上のことを目的として、臨床サンプル、培養細胞株さらに実験動物を用いて研究を進め、脳原発悪性リンパ腫の予後の改善を目標にした。

## 3. 研究の方法

(1) 臨床的研究：脳原発リンパ腫の生物学的特徴を検討する目的で、腫瘍のグルコース代謝（増殖能を反映）を診断できる FDG-PET と

細胞密度を診断できる MRI 拡散強調画像を用いて、脳原発リンパ腫を含む脳腫瘍症例で比較検討した。

(2) 基礎的研究：悪性腫瘍では種々の増殖因子により活性化された PI3kinase/Akt および Ras/MAPkinase などのシグナルを介した転写因子の活性化による増殖分子やアポトーシス分子の転写促進が考えられる。また翻訳開始因子である eIF-4E (eukaryotic initiation factor 4E) は、乳癌、頭頸部癌、大腸癌等で高発現が報告されており、リンパ腫でも c-Myc とともにリンパ腫発生および悪性化に関与していることが知られている。

脳原発リンパ腫生検組織での、eIF4E の発現を免疫組織検査にて検討した。

脳原発リンパ腫由来の培養細胞株を用いて、eIF4E の活性化酵素である MNK kinase の阻害剤を用いて、増殖抑制、細胞死誘導効果を検討した。

免疫不全マウスの皮下にリンパ腫培養細胞株を移植したモデルを作製し、その後 MNK kinase 阻害剤を用いて、腫瘍抑制効果を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 臨床的研究：脳原発リンパ腫では、FDG-PET にて FDG の集積を示す指標である SUVmax 値が他の脳原発腫瘍に対して有意に高値であった（図 1）。また脳原発リンパ腫は、MRI 拡散強調画像にて細胞密度を示す ADC 値が低値であった。このことは脳原発リンパ腫では、他の脳腫瘍に対してグルコース代謝が亢進していることを示している。よってこの結果は脳原発リンパ腫の診断に有用であり、さらにブドウ糖の取り込みに関わる分子や代謝酵素を標的とした新たな治療戦略の開発に貢献できる。

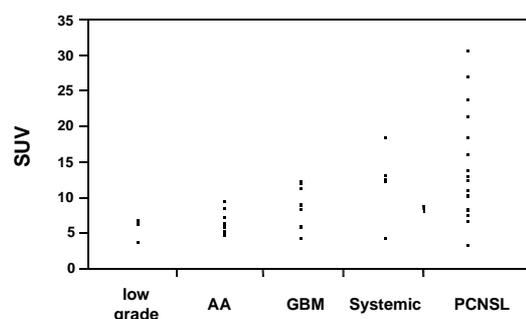


図1 各種脳腫瘍における SUV 値の比較

(2)基礎的研究

脳原発リンパ腫症例の腫瘍サンプルにて免疫組織化学染色でその発現を解析したところ、活性型であるリン酸化 eIF4E の高発現が見られた(図2)。また全身性のリンパ腫では、より悪性度の高い組織型にリン酸化 eIF-4E の高発現がみられた。

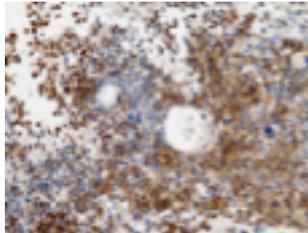
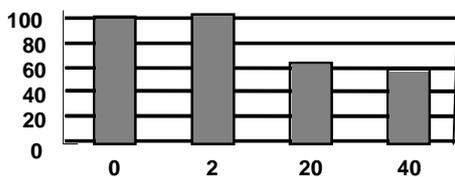


図2 リン酸化 eIF4E の発現

eIF-4E の腫瘍細胞における役割を調べる目的で、培養細胞株を用いて実験を行なった。リンパ腫の細胞株では、eIF4E のリン酸化は亢進していた。また eIF-4E のリン酸化はその直接的リン酸化酵素である MNkinase の阻害剤でのみ抑制されることがわかった。

リンパ腫細胞株では MNkinase 阻害剤を用いて eIF-4E の活性化を抑制すると、腫瘍細胞の増殖抑制(図3)や一部の細胞に細胞死を誘導することがわかった。



薬剤濃度 (uM)

図3 eIF4E 活性抑制による増殖抑制効果

リンパ腫培養細胞株を免疫不全マウスの皮下に接種して作製した皮下腫瘍モデルに対して、MNkinase 阻害剤を腹腔内に投与する治療実験では、腫瘍の増殖を優位に抑制できた(図4)。

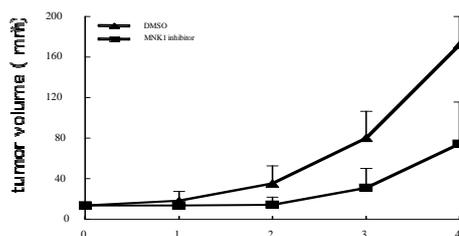


図4 MNkinase 阻害剤による腫瘍増殖抑制

効果

以上の結果、リンパ腫において MNkinase /eIF4E 経路は、増殖および抗細胞死に重要な役割を果たしていることがわかった。よって MNkinase/eIF4E は、脳原発悪性リンパ腫において、新たな分子標的治療の対象になりうると考えられた。

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 5 件)

Akter M, Hirai T, Makino K, Kuratsu J

(他5名、3, 8 番目): Diffusion-weighted imaging of primary brain

lymphomas :Effect of ADC value and signal intensity of T2-weighted imaging. Comput Med Imaging Graph32, 539-543, 2008 査読有

牧野敬史、中村英夫、倉津純一 PET-脳腫瘍診断への応用 脳神経外科速報

18, 1246-1254, 2008 査読無

Makino K, Nakamura H, Yano S, Kuratsu J. Pediatric primary CNS lymphoma: longterm survival after treatment with radiation monotherapy. Acta Neurochir (Wien)149, 295-298, 2007 査読有

Makino K, Nakamura H, Kudo M, Takeshima H, Kuratsu J. Complete response to temozolomide treatment in an elderly patient with recurrent primary central nervous system lymphoma, Neurol Med Chir (Tokyo) 47(5), 229-232, 2007 査読有

Tsuiki H, Nishi T, Takeshima H, Yano S, Nakamura H, Makino K, Kuratsu J.: Single nucleotide polymorphism 309 affects murin-double-minute 2 protein

expression but not glioma tumorigenesis.  
Neurol Med Chir (Tokyo) 47, 203-209, 2007  
査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

牧野敬史、高齢者再発脳原発リンパ腫の治療成績、第22回日本老年脳神経外科学会、2009年3月27日、広島

牧野敬史、脳原発悪性リンパ腫症例における治療後の長期経過観察の重要性、第26回日本脳腫瘍学会、2008年12月1日、松山(愛媛)

牧野敬史、脳原発悪性リンパ腫の再発および進行例に対するテモゾラミドの使用経験、第67回日本脳神経外科学会総会、2008年10月3日、盛岡(岩手)

牧野敬史、脳原発T細胞性リンパ腫6例の臨床病理学的検討、第26回日本脳腫瘍病理学会、2008年5月24日、東京

牧野敬史、大量メソトレキセート療法による80歳代の脳原発リンパ腫症例の治療経験、第21回日本老年脳神経外科学、2007年3月8日、東京

牧野敬史、高齢者脳原発悪性リンパ腫の治療成績、第25回日本脳腫瘍学会、2007年12月10日、東京

Makino K.、The evaluations of usefulness of positron emission tomography in patients with primary central nervous system lymphoma、5<sup>th</sup> meeting of The Asian Society for Neuro-Oncology、November 3, 2007、ISTANBUL(TURKIYE)

牧野敬史、脳原発悪性リンパ腫の診断におけるPET検査の有用性の検証、第66回日本脳神経外科学会総会、2007年10月5日、東京

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

牧野 敬史 (MAKINO KEISHI)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教

研究者番号：90381011

### (2)研究分担者

倉津 純一 (KURATSU JUNICHI)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・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・助教

研究者番号：30359963

### (3)連携研究者

なし