

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591689

研究課題名（和文） 中枢神経系胚細胞腫における遺伝生物学的解析に基づく治療抵抗性のメカニズムの解明

研究課題名（英文） Investigation for the mechanism of the therapeutic resistance in central nervous system germ cell tumors based on the genetic & biological analysis

研究代表者

中村 英夫 (NAKAMURA HIDEO)

熊本大学・医学部付属病院・助教

研究者番号：30359963

研究成果の概要：われわれは、中枢神経系胚細胞腫の発生のメカニズムを解明するために遺伝生物学的解析を行い、染色体 X の一部が腫瘍細胞で頻りに欠損していることを見出した。また、C-kit という細胞表面の分子がジャーミノーマ細胞の増殖において重要な役割を果たしている可能性を示唆した。更に C-kit の turn-over にマトリックスメタルプロテイナーの TACE が関与している可能性を検証した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
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

1. 研究開始当初の背景

(1) 中枢神経系に発生する胚細胞腫は、生殖器に発生する胚腫瘍と組織学的にはほとんど変わりなく、起源としては胎生期の germ cell である。胎生期の germ cell が中枢神経系に迷入し、遺伝子の異常が発生し腫瘍化すると従来は考えられていたが、最近では Cancer Stem Cell の研究により、多分化能、自己複製能をもつ Stem Cell が関与している

という説もあり、現時点では混沌としている。

(2) 中枢神経系胚細胞腫は、欧米に比べて日本人に多く、また前述のごとく 10 歳代に発生し、松果体に発生するものは特に男児に多い。それ故に腫瘍発生には何らかのホルモン因子が関与すると考えられるが、そのメカニズムに関しては全く分かっていない。

2. 研究の目的

(1) 中枢神経系胚細胞腫の発生および増殖のメカニズムを解明する。また、そのメカニズムの中で重要な分子を同定し、悪性化への関与などを分子生物学的に検証する。

(2) 中枢神経系胚細胞腫は、比較的化学療法、放射線療法に反応するが、それでもある期間において再発してきたり、また悪性の胚細胞腫において治療抵抗性を獲得しているものが存在する。我々は、中枢神経系胚細胞腫の Cancer Stem Cell を特徴を明らかにし、動物モデルで腫瘍形成能があるか、また、それらが化学療法や、放射線治療の抵抗性に寄与しているかどうかを検証する

3. 研究の方法

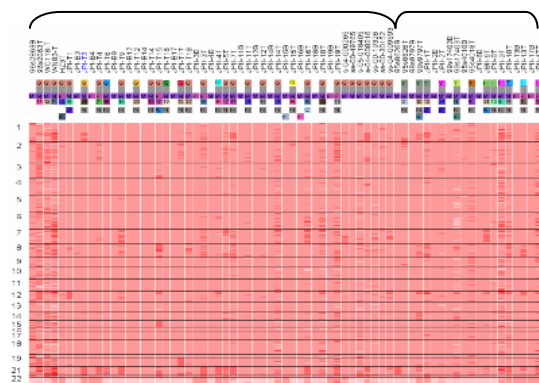
(1) 発生のメカニズムを解明するために中枢神経系胚細胞腫に対し遺伝生物学的なアプローチを駆使していくつかの知見を得てきた。まず、中枢神経系胚細胞腫の LOH 解析、ゲノムコピー数の解析により、染色体レベルでの異常を調べたところ、いくつかの染色体での異常が認められたが、興味深いことに X 染色体の異常が多数認められた。染色体レベルでの解析は現在も進行中であり、米国テキサス州 Baylor 大学の研究チームと共同で行っている。X 染色体の異常については、当初あまり注目していなかったが、症例数の増加に伴い、明らかに有意であると確信し、X 染色体の異常について詳細な解析を行うプロジェクトを計画し、進行中である。臨床的にも中枢神経系胚細胞腫は 10 歳代の男児に多く発症する傾向であり、X 染色体上の何らかの遺伝子異常が中枢神経系胚細胞腫の発生に関与する可能性は高い。CGH アレイにて染色体レベルの異常を検出した。

(2) C-kit という細胞表面のレセプターがジャーミノーマ細胞の増殖に関与しているという可能性を免疫染色にて確認し、また培養細胞にて C-kit が TACE というマトリックスメタロプロテイナーゼの一つによって切断される可能性を検証した。なかなか native の C-kit に発現が高くないため、C-kit を強発現した培養細胞を樹立し、TACE をさらに強発現させることによって、C-kit が切断され分泌される s-kit という分子の検出の系を作成した。

4. 研究成果

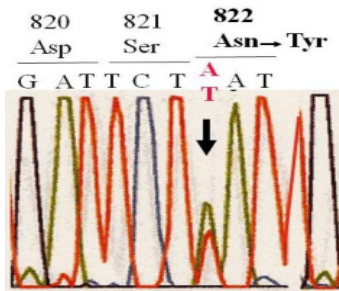
(1) 中枢神経系胚細胞腫の遺伝学的解析においては X 染色体の分子が関与している可能性が高い事を見出した。また、X 染色体ということで、これが臨床的に男児に多いということの証明につながる可能性があることを示唆した。

中枢神経系胚細胞腫のゲノムコピー数の解析 ジャーミノーマ 悪性胚細胞腫



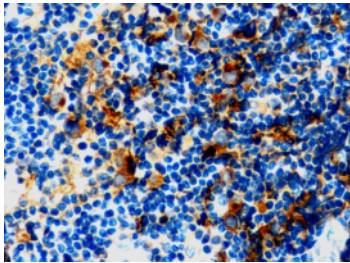
(2) ジャーミノーマにおいて C-kit 分子の変異をシーケンサ - にて検証し、数例の点突然変異を見出した。

ジャーミノーマの C-kit 分子の point mutation



(3) ジャーミノーマに特異的に C-Kit が発現している事を免疫染色にて確認すると同時に、その分子を切断している可能性がある TACE の免疫染色を行った。

TACE のジャーミノーマにおける免疫染色



以上のことを総合し我々は中枢神経系胚細胞腫の増殖のメカニズムの解明を行い、それに基づく分子標的療法の開発を行いたいと考えている。

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 1 件)

(1) Nakamura H, Makino K, Kuratsu JI. Carbon 11-labeled methionine positron emission tomography for detection of residual viable tumor cells after adjuvant therapy in nongerminomatous malignant germ cell tumors in 2 cases including an autopsy case. Surg Neurol. 71:83-8.2009 (査読あり)

[学会発表](計 7 件)

(1) 中村英夫, 牧野敬史, 秀 拓一郎, 倉津純一 Grade III グリオーマの放射線治療

における放射線壊死 第 26 回日本脳腫瘍学会 (2008 年 11 月 30 日 - 12 月 2 日 松山)

(2) 中村英夫, 牧野敬史, 倉津純一 悪性神経膠腫の再発時における化学療法の有効性についての検討 第 67 回日本脳神経外科学会学術総会 (2008 年 10 月 1 - 3 日 盛岡)

(3) 中村英夫 牧野敬史 倉津純一 中里洋一 診断困難であった松果体部腫瘍の稀な 1 例の臨床的検討 第 26 回日本脳腫瘍病理学会 (2008 年 5 月 23 - 24 日 東京)

(4) 中村英夫, 牧野敬史, 倉津純一 グリオーマにおけるメチオニン、FDG - PET の有用性 第 26 回日本脳腫瘍学会 (2007 年 12 月 8 - 10 日 東京)

(5) Hideo Nakamura, Keishi Makino, Shigetoshi Yano, Tomataka Sakurama, Jun-ichi Kuratsu, [11C] Methionine and [18F] Fluoro-deoxyglucose PET evaluation in all grade of gliomas. 5th Meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology (2007 Nov 2-4 Istanbul, Turkey)

(6) Hideo Nakamura, Keishi Makino, Yukitaka Ushio, Jun-ichi Kuratsu C-kit that is a powerful tumor marker in germinoma is mutated and TACE regulates c-kit shedding in germinomas. Taiwan International symposium of pediatric neuro-oncology meeting (2007 Oct 20-21 Taipei, Taiwan)

(7) 中村英夫, 牧野敬史, 倉津純一 Evaluation of the therapeutical and prognostic analysis for low grade glioma. 2007 年日本脳神経外科総会 (2007 年 10 月 3

- 5日 東京)

〔図書〕(計 1 件)

(1) 中村英夫 倉津純一 Low grade glioma に対する temozolomide (TMZ) 脳 21 12 巻
61 - 66 2009 年

6 . 研究組織

(1)研究代表者

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

(2)研究分担者

倉津 純一 (KURATSU JUN-ICHI)
熊本大学・大学院医学薬学研究部・教授
研究者番号：20145296
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
荒木 令江 (ARAKI NORIE)
熊本大学・大学院医学薬学研究部・准教授
研究者番号：80253722

(3)連携研究者