

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19790992

研究課題名（和文） Eph/ephrin バイオロジーと神経膠腫浸潤

研究課題名（英文） The role of Eph/ephrin in glioma invasion

研究代表者

中田 光俊（NAKADA MITSUTOSHI）

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：20334774

研究成果の概要：

我々は Eph/ephrin チロシンキナーゼファミリーに着目し神経膠芽腫浸潤における働きとその臨床像に与える影響を検討した。その結果、EphB2/ephrin-B2 シグナルが神経膠芽腫の浸潤能を亢進させ悪性化に寄与していることが明らかになった。さらに、Ephrin-A2 が EphA シグナルを介して神経膠芽腫浸潤に抑制的に働き、臨床上有用な予後規定因子になりうることを示した。これらのことから EphA/ephrin-A と EphB/ephrin-B は神経膠芽腫の浸潤において逆の作用を有し両者のシグナルバランスで浸潤が制御されている可能性が示された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	0	2,400,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	270,000	3,570,000

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：脳神経外科学・脳腫瘍学

キーワード：神経膠芽腫、浸潤、Eph, ephrin

1. 研究開始当初の背景

脳内原発の神経膠芽腫は本邦で年間 2,500 人の発生があり、人類に残された致死性の悪性腫瘍の一つである。神経膠芽腫は浸潤性増殖が顕著で、正常脳に浸潤する形で発育するため、手術で全部摘出することは不可能であり、術後の再発のほとんどが摘出腔深部 2cm 以内である。このことから、悪性神経膠腫の分子生物学的特性を知る上で神経膠芽腫細胞が正常脳に浸潤する分子機構の理解は極めて重要である。神経膠芽腫の治療開発を考え

る場合、浸潤に寄与する分子の同定は必須と考えられる。近年、我々はマイクロアレイによる浸潤細胞と非浸潤細胞の遺伝子発現プロファイルの比較から、浸潤細胞に優位に発現するチロシンキナーゼ Eph/ephrin に着目した。Eph/ephrin は受容体、リガンドともに膜型蛋白のチロシンキナーゼで、相互のシグナルは細胞の反発作用を惹起し、胎児期神経発生における細胞遊走に重要な役割を果たすことが知られている。Eph/ephrin ファミリーは脳組織形態形成に重要な役割を果たすのみならず癌の浸潤・転移、増殖などの病態と

も深く関わっていることが明らかになってきており、いまだ解析途上にある Eph/ephrin 分子群の神経膠腫における機能解析は急務であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は Eph/ephrin ファミリーの神経膠芽腫の生物学における役割を解明することである。この結果から他臓器がんにも先駆けて、がん研究領域における Eph/ephrin バイオロジーの基盤を構築し、他臓器癌では臨床応用されているチロシンキナーゼ阻害剤の神経膠芽腫に対する適応の可能性を検討することを目指した。

3. 研究の方法

171 例の神経膠腫手術材料において Eph/ephrin ファミリーの発現レベルを測定し、腫瘍悪性度および臨床的予後との相関を検討した。4 種類の神経膠腫細胞株 (U87, T98G, U251, SNB19) を用いて候補遺伝子の発現を調べ、分子生物学的手法を用いて Eph/ephrin ファミリー分子の機能を検討した。

4. 研究成果

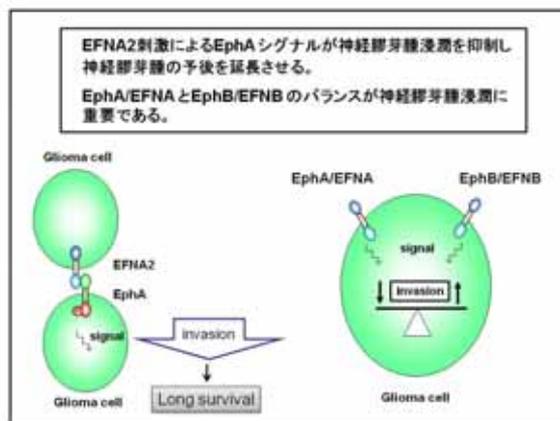
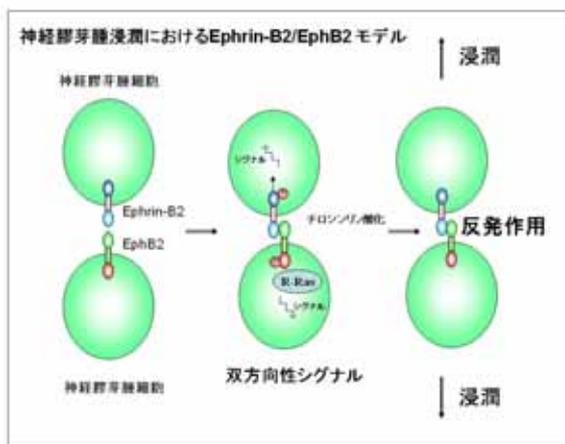
3 種類の ephrin-B のうち ephrin-B1 と B2 の発現が、正常脳 (n=24) と比較し神経膠芽腫 (n=82) で有意に高かった ($p < 0.01$)。神経膠腫細胞株では ephrin-B2 のリン酸化に伴い *in vitro*, *ex vivo* で遊走・浸潤能は亢進した。さらに ephrin-B2 の阻害抗体により *in vitro*, *ex vivo* で神経膠腫細胞株の遊走・浸潤能は抑制された。

Kaplan-Meier 解析により、神経膠芽腫症例において予後との相関を認めたのは Ephrin-A2 リガンドの発現のみであり有意な予後良好因子であった (77 例、 $p=0.0069$)。Ephrin-A2 高発現細胞株 (SNB19, U251) において ephrin-A2 発現抑制細胞株では遊走・浸潤が促進された。また、Ephrin-A2/Fc chimera 刺激で濃度依存性に遊走・浸潤が抑制された。一方、Ephrin-A2 低発現細胞株 (U87, T98G) において ephrin-A2 強制発現細胞株では EphA の発現の高い T98G で遊走・浸潤が抑制された。

これらのことから、ephrin-B2 の過剰発現が神経膠腫の浸潤亢進に関与していることが示唆された。我々は神経膠芽腫に高発現する EphB2 受容体が神経膠腫浸潤を促進することを以前に報告しており、EphB/ephrin-B シグナルが神経膠腫の浸潤能を亢進させ悪性化に寄与していることを明らかにした。一方で Ephrin-A2 は、EphA シグナルを介して神経膠芽腫浸潤に抑制的に働くことが示唆され、臨

床上有用な予後規定因子になりうると考えられた。以上の研究から EphA/ephrin-A と EphB/ephrin-B は神経膠芽腫の浸潤において逆の作用を有し両者のバランスで浸潤が制御されている可能性が示された。

この知見は神経膠芽腫浸潤の分子機構を理解する一助となった。今後は臨床応用への可能性を探る予定である。



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9件)

1. Zavarella S, Nakada M, (他6名, 2番目)
Role of Rac1-regulated signaling in medulloblastoma invasion.
Journal of Neurosurg: Pediatrics 2009, in press 査読有
2. Miyashita K, Kawakami K, Nakada M, (他6名, 3番目)
Potential effect of glycogen synthase kinase 3β inhibition against human glioblastoma.

- Clin Can Res* 15: 887-897, 2009, 査読有
3. 中田光俊, 佐谷秀行
脳腫瘍浸潤の分子機構
脳 21 12: 16-20, 2009, 査読無
 4. Salhia B, Tran NL, Chan A, Wolf A, Nakada M, (他 6 名, 5 番目)
The guanine nucleotide exchange factors Trio, Ect2, and Vav3 mediate the invasive behavior of glioblastoma.
Am J Pathol 173: 1828-1838, 2008, 査読有
 5. Hoelzinger DB, Nakada M, (他 4 名, 2 番目) Autotaxin: a secreted autocrine/paracrine factor that promotes glioma invasion.
Journal of Neuro-Oncology 86: 297-309, 2008, 査読有
 6. Demuth T, Rennert JL, Hoelzinger DB, Reavie LB, Nakada M, (他 13 名, 5 番目) Glioma cells on the run – the migratory transcriptome of 10 human glioma cell lines.
BMC Genomics 9: 54, 2008, 査読有
 7. Salhia B, Hwang JH, Smith CA, Nakada M, Rutka F, Symons M, Rutka JT
Role of myosin II activity and the regulation of myosin light chain phosphorylation in astrocytomas.
Cell Motility and the Cytoskeleton 65: 12-24, 2008, 査読有
 8. 中田光俊, 濱田潤一郎
神経膠腫の浸潤機構
脳神経外科速報 18: 66-75, 2008, 査読無
 9. Nakada M, Nakada S, Demuth T, Tran NL, Hoelzinger DB, Berens ME.
Molecular targets of glioma invasion
Cell Mol Life Sci 64: 458-78, 2007, 査読有
- [学会発表](計 13 件)
1. 中田光俊, 南部絵美, 吉田優也, 喜多大輔,

- 林康彦, 内山尚之, 林裕, 濱田潤一郎
グリオーマ内在幹細胞の浸潤関連遺伝子の探索
第 26 回日本脳腫瘍学会,
平成 20 年 11 月 30 日-12 月 2 日, 松山
2. 中田光俊, 吉田優也, 杉本直俊, 林康彦, 喜多大輔, 内山尚之, 林裕, 濱田潤一郎
Sphingosine-1-phosphate₁ receptor regulates glioma cell proliferation and predicts patient survival
第 67 回日本癌学会学術総会,
平成 20 年 10 月 28 日-30 日, 名古屋
 3. 中田光俊, 吉田優也, 喜多大輔, 林康彦, 内山尚之, 林裕, 濱田潤一郎
神経膠芽腫の MIB-1 labeling index に影響する細胞増殖関連分子の解析
第 67 回日本脳神経外科学会総会,
平成 20 年 10 月 1 日-3 日, 盛岡
 4. Nakada M, Yoshida Y, Harada T, Kita D, Hayashi Y, Uchiyama N, Hayashi Y, Hamada JI
The significant relationship between MIB-1 labeling index and S1P1 expression correlates with survival in glioblastoma
8th Congress of the European Association for NeuroOncology,
September 12-14, 2008, Barcelona, Spain
 5. 中田光俊, 喜多大輔, 林康彦, 内山尚之, 林裕, 濱田潤一郎
神経膠芽腫浸潤における EphA/ephrin-A シグナルの意義 (シンポジウム)
第 9 回日本分子脳神経外科学会,
平成 20 年 8 月 30 日-31 日, 京都
 6. Nakada M, Yoshida Y, Harada T, Kita D, Hayashi Y, Uchiyama N, Hayashi Y, Hamada JI
The expression level of S1P1 is related to MIB-1 labeling index which predicts

survival in glioblastoma.

The 17th International Conference on Brain
Tumor Research & Therapy,
June 9-12, 2008, Hakodate, Japan

7. 中田光俊, 喜多大輔、林康彦、内山尚之、
林裕、Berens ME、Lee KY、濱田潤一郎
CDK5/p35 と神経膠芽腫浸潤
第 25 回日本脳腫瘍学会,
平成 19 年 12 月 9 日-11 日, 東京
8. Nakada M, Miyamori H, Kita D, Hayashi Y,
Uchiyama N, Hayashi Y, Sato H, Hamada JI
The interaction between matriptase and
MT1-MMP in glioma invasion.
5th Meeting for the Asian Society for
Neuro-Oncology, November 2-4, 2007,
Istanbul, Turkey
9. 中田光俊, 宮森久志、喜多大輔、林康彦、
内山尚之、林裕、佐藤博、濱田潤一郎
神経膠芽腫浸潤における Matriptase の役割
第 66 回日本脳神経外科学会総会,
平成 19 年 10 月 3 日-5 日, 東京
10. 中田光俊, 濱田潤一郎、Berens ME
Ephrin-B2 ligand tyrosine kinase drives
glioma invasion and predicts survival
第 66 回日本癌学会学術総会,
平成 19 年 10 月 3 日-5 日, 横浜
11. 中田光俊, 宮森久志、喜多大輔、林康彦、
内山尚之、林裕、佐藤博、濱田潤一郎
神経膠芽腫浸潤における細胞外基質分解
酵素の相互作用
第 8 回日本分子脳神経外科学会,
平成 19 年 8 月 31 日-9 月 1 日, 兵庫
12. 中田光俊
Microarray による悪性脳腫瘍浸潤関連分子
の同定と機能解析
第 6 回北陸ポストゲノム研究フォーラム,
平成 19 年 6 月 28 日, 金沢
13. 中田光俊, 濱田潤一郎、Berens ME

Glioma の浸潤における Ephrin-B 分子の

役割

第 23 回日本脳腫瘍病理学会,
平成 19 年 4 月 19 日-20 日, 熊本

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

中田 光俊 (NAKADA MITSUTOSHI)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号 : 20334774

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし