

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2019～2023
課題番号：19K08345
研究課題名（和文）髄芽腫における髄膜播種の機能解析とリキッドバイオプシーの可能性についての検討

研究課題名（英文）Leptomeningeal metastasis and liquid biopsy for medulloblastoma

研究代表者
木嶋 教行 (Kijima, Noriyuki)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80534627
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、まず手術によって得られたヒト由来の髄芽腫細胞を免疫不全マウスの脳内へ移植し、髄膜播種および血行性転移が起こる頻度を検討し、髄膜播種および血行性転移が高頻度に生じることを見出した。次に原発巣の腫瘍組織と脊髄、全身臓器から腫瘍細胞を分離し、その後RNAを抽出し、原発巣と比して発現が上昇している分子をRNAシーケンスにて同定した。さらに髄芽腫のマウス脳内移植モデルを用いて、腫瘍細胞とその血液中および髄液中より循環腫瘍細胞（CTC）を分離し、各々の細胞の遺伝子解析を試みた。髄液中からは腫瘍細胞およびRNAの抽出が可能であったが、血液中のCTCからのRNAの抽出は困難であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により髄芽腫の髄膜播種に関与する標的分子が同定され、この標的分子を標的とした治療方法の開発につながることを期待される。また髄液中からの腫瘍細胞の採取は可能であるが、血液中からの腫瘍細胞の採取は困難であることから、こちらを用いたリキッドバイオプシーについては今後さらなる改良が必要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we first injected patient-derived medulloblastoma cells into the brains of immunodeficient mice and examined the frequency of leptomeningeal and hematogenous metastasis. We found that both leptomeningeal and hematogenous metastasis frequently occurs in medulloblastoma. Next, we isolated the tumor cells from primary tumor and metastasis from mice. RNA was extracted from each organ and identified the molecules whose expression was increased compared to the primary tumor using RNA sequencing. Furthermore, we also aim to isolate circulating tumor cells (CTCs) from tumor cells, their blood, and cerebrospinal fluid from mice. Although it was possible to extract tumor cells and RNA from cerebrospinal fluid, it was difficult to extract CTCs and RNA in the blood.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：髄芽腫 髄膜播種 リキッドバイオプシー

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

髄芽腫は小児悪性脳腫瘍の中でも頻度の高いものの一つである。髄芽腫はその遺伝学的背景より少なくとも4つの subgroup (WNT, SHH, Group3, Group4) に分類されることが知られており、その subgroup 毎に治療成績が異なることが知られている。このうち特に Group3 と呼ばれる一群は既存の集学的治療をもってしても治療に対して抵抗性であり、かつ治療抵抗性を示し再発を来す際、髄膜播腫を高率に来たしており、また全身臓器への転移も起こすことがあることが知られている。このような場合は非常に予後不良な状態とされている。

一方、髄芽腫の原発巣と髄膜播腫した細胞とでは遺伝学的背景が違ふことが報告され、髄膜播腫については原発巣とは違った治療戦略が必要であることが明らかとなっている。このことから髄芽腫においては髄膜播腫に関わる特異的分子が存在する可能性が示唆され、その特異的分子の同定は今後の髄芽腫の治療成績向上には必須と考えられる。

また従来髄芽腫を含めた悪性脳腫瘍は全身臓器へはほとんど転移せず、血行性転移は稀とされていたが、研究代表者である木嶋はトロント小児病院留学時に髄芽腫患者の血液中に循環腫瘍細胞 (circulating tumor cells, 以下 CTC) が存在することや髄芽腫の髄膜播腫は血行性にも起こりうることを証明し、その成果を Cell 誌に報告している。

全身臓器の固形癌では血液中を循環する CTC を検出し、血液を用いた癌の診断や治療効果の判定を行う試みが盛んに行われている。前述のように髄芽腫においても CTC が検出されるのであれば、血液中あるいは髄液中の CTC を回収し、腫瘍細胞の解析を行うことで、生検術を行わずとも血液や髄液を用いるだけで髄芽腫の診断が可能になったり (リキッドバイオプシー)、また放射線療法や化学療法を行った場合の治療効果を判定するためのバイオマーカーとしての応用が可能になると思われる。本研究では髄芽腫における血液中や髄液中の CTC の解析も行うことで、CTC の診断 (リキッドバイオプシー) への応用や治療効果評価のバイオマーカーとしての可能性についての検討も行う予定である。

2. 研究の目的

髄芽腫はその遺伝学的背景より少なくとも4つの subgroup に分類されることが知られており、その subgroup 毎に治療成績が異なることが知られている。そのうち Group3 と呼ばれる一群は既存の集学的治療をもってしても治療に対して抵抗性のことが多く、予後不良である。Group3 の髄芽腫は治療抵抗性を示し再発を来す際、髄膜播腫を高率に来たしており、このような場合は非常に予後不良な状態とされている。さらに近年髄芽腫の原発巣と髄膜播腫した腫瘍細胞とでは遺伝学的背景が違ふことが報告され、髄膜播腫については原発巣とは違った治療戦略が必要であることも明らかとなっている。本研究は髄芽腫の髄膜播腫に関わる新規治療標的分子を同定すると同時に、髄液中もしくは血液中に存在する循環腫瘍細胞の機能解析、遺伝子解析を試みることで、髄芽腫に対する診断 (リキッドバイオプシー) への応用の可能性についての検討も行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 髄芽腫における髄膜播腫に関わる標的分子の同定 手術によって得られたヒト由来の髄芽

腫瘍細胞を免疫不全マウスの脳内へ移植し、髄膜 播種および血行性転移が起こる頻度を病理組織学的手法にて明らかにした。次に原発巣 の腫瘍組織と血液、髄液、脊髄、全身臓器（肝臓、肺など）から腫瘍細胞を分離し、RNA を抽出し、原発巣と比して発現が上昇している分子を RNA シークエンスを用いて同定 し、髄膜播種に関わる候補分子を次世代シーケンサーを用いて同定した。

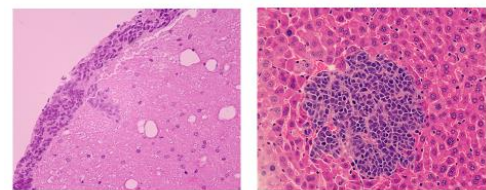
（２）血液および髄液中の髄芽腫循環腫瘍細胞（CTC）の診断（リキッドバイオプシー）への応用と治療効果評価のバイオマーカーとしての可能性についての検討 髄芽腫のマウス脳内移植モデルを作成し、原発巣とその血液中および髄液中より CTC を分離したのち、各々の細胞の遺伝子解析を次世代シーケンサーを用いて行うことを試みた。

4. 研究成果

本研究では、まず手術によって得られたヒト由来の髄 芽腫細胞を免疫不全マウスの脳内へ移植し、髄膜播種および血行性転移が起こる頻度を検討し、髄膜播種および 血行性転移が高頻度に生じることを見出した（図 1）。次に原発巣の腫瘍組織と脊髄、全身臓器から腫瘍細胞 を分離し、その後 RNA を抽出し、原発巣と比して発現が 上昇している分子を RNA シークエンスにて同定した。さらに髄芽腫のマウス脳内移植モデルを用いて、腫瘍 細胞とその血液中および髄液中より循環腫瘍細胞（CTC）を分離し、各々の細胞の 遺伝子解析を試みた。髄液中からは腫瘍細胞および RNA の抽出が可能であったが、血液中の CTC からの RNA の抽出は困難であった。従来髄芽腫は血行性にはほとんど転移しないとされてきたが、本研究にて髄芽腫において血行性転移が起こりうる可能性が示唆された。

本研究により髄芽腫の髄膜播種 に関与する標的分子が同定され、この標的分子を標的とした治療方法の開発につながることを期待される。また髄液中からの腫瘍細胞の採取は可能であるが、血液中からの腫瘍細胞の採取は困難であった。このことはリキッドバイオプシーの可能性については今後さらなる改良が必要であることが示唆された。

図 1 髄芽腫細胞脳内投与時の転移像



脊髄髄膜播種

肝転移

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yamada S, Kijima N†, Kinoshita M, Shinzaki S, Sato K, Kido K, Hirayama R, Kagawa N, Takehara T, Morii E, Kishima H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Cerebellopontine angle metastasis of a neuroendocrine tumor mimicking vestibular schwannoma: A case report.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgical Neurology International	6. 最初と最後の頁 264
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.25259/SNI_117_2022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kijima N, Kishima H.	4. 巻 50(4)
2. 論文標題 Utility of Neurosurgical Procedures Using 4K 3D Exoscopes: Clinical Experience with a 4K 3D Exoscope and Review of Literature.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 No Shinkei Geka	6. 最初と最後の頁 889-901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11477/mf.1436204644.	査読の有無 無
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 Coltin H, Sundaresan L, Kijima N, Taylor MD, Ramaswamy V, et al.	4. 巻 142(5)
2. 論文標題 Subgroup and Subtype Specific Outcomes in Adult Medulloblastoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Neuropathol	6. 最初と最後の頁 859-871
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00401-021-02358-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kijima N, Kinoshita M, Takagaki M, Kishima H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Utility of a Novel Exoscope, ORBEYE, in Gravity-Assisted Brain Retraction Surgery for Midline Lesions of the Brain.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surg Neurol Int	6. 最初と最後の頁 339
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.25259/SNI_320_2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Francisco MA, Wanggou S, Fan JJ, Dong W, Chen X, Momin A, Abeyundara N, Min HK, Chan J, McAdam R, Sia M, Pusong RJ, Liu S, Patel N, Ramaswamy V, Kijima N, Wang LY, Song Y, Kafri R, Taylor MD, Li X, Huang X.	4. 巻 217
2. 論文標題 Chloride intracellular channel 1 cooperates with potassium channel EAG2 to promote medulloblastoma growth.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 e20190971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20190971	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 該当する

1. 著者名 Achiha T, Kijima N, Kodama Y, Kagawa N, Kinoshita M, Fujimoto Y, Nonaka M, Fukai J, Inoue A, Nishida N, Yamanaka T, Harada A, Mori K, Tsuyuguchi N, Uda T, Ishibashi K, Tomogane Y, Sakamoto D, Shofuda T, Yoshioka E, Kanematsu D, Mano M, Luu B, Taylor MD, Kanemura Y, Kishima H.	4. 巻 15
2. 論文標題 Activated leukocyte cell adhesion molecule expression correlates with the WNT subgroup in medulloblastoma and is involved in regulating tumor cell proliferation and invasion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0243272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0243272	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計16件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 木嶋教行、香川尚己、沖田典子、平山龍一、館哲郎、黒田秀樹、木下学、貴島晴彦
2. 発表標題 4K3D外視鏡を用いたグリオーマに対するマルチモダリティ手術
3. 学会等名 第81回日本脳神経外科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木嶋教行、香川尚己、沖田典子、平山龍一、館哲郎、黒田秀樹、木下学、貴島晴彦
2. 発表標題 グリオーマ手術における4K3D外視鏡の有用性と限界
3. 学会等名 第29回日本神経内視鏡学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Noriyuki Kijima, Daisuke Kanematsu, Tomoko Shofuda, Hiroshi Suemizu, Yonehiro Kanemura, et al.
2. 発表標題 Genetic and molecular properties of long-term proliferating tumorsphere -forming glioma derived cells
3. 学会等名 The 26th Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木嶋教行、兼松大介、正礼智子、吉岡絵麻、山本篤世、半田有佳子、福角勇人、勝間亜沙子、隅田美穂、森内秀佑、埜中正博、沖田典子、露口尚弘、宇田武弘、川嶋俊幸、深井順也、児玉良典、眞能正幸、樋口裕一郎、末水洋志、金村米博
2. 発表標題 グリオーマにおける患者腫瘍組織由来初代培養細胞株の遺伝学的、分子生物学的解析
3. 学会等名 第39回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木嶋教行、中川智義、阿知波孝宗、平山龍一、木下学、香川尚己、貴島晴彦
2. 発表標題 グリオブラストーマの浸潤における ALCAM の機能的役割についての検討
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 Noriyuki Kijima, Yoshikazu Nakajima, Daisuke Kanematsu, Tomoko Shofuda, Yuichiro Higuchi, Hiroshi Suemizu, Kanji Mori, Yoshinori Kodama, Masayuki Mano, Haruhiko Kishima, Yonehiro Kanemura
2. 発表標題 Establishment of patient-derived xenografts from rare primary brain tumors.
3. 学会等名 The 25th Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木嶋 教行
2. 発表標題 髄芽腫におけるcirculating tumor cellsの同定と新たな髄膜播種機構としての血行性転移の可能性
3. 学会等名 第47回日本小児神経外科学会総会
4. 発表年 2019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	金村 米博 (Kanemura Yonehiro) (80344175)	独立行政法人国立病院機構大阪医療センター(臨床研究センター)・その他部局等・機関長・部門長クラス (84414)	

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
---------	---------