

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 16 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2012

課題番号：20390392

研究課題名 (和文) 中枢神経原発悪性リンパ腫に対するゲノム情報を基盤とした新たな診断、治療学の展開

研究課題名 (英文) Development of novel diagnostic and therapeutic strategies for primary central nervous system lymphomas by genome-wide analysis

研究代表者

山中 龍也 (YAMANAKA RYUYA)

京都府立医科大学・医学部・教授

研究者番号：20323991

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、中枢神経系原発悪性リンパ腫、遺伝子発現プロファイル、マイクロアレイ、分子標的療法、ゲノム創薬

1. 研究計画の概要

中枢神経系原発悪性リンパ腫 (PCNSL) は中枢神経系に原発する節外性非ホジキン型リンパ腫で、多くは B 細胞リンパ腫である。High dose Methotrexate (HD-MTX) の化学療法は PCNSL に広く用いられるレジメンである。しかしながら、本治療法の問題点として、(1) 生存率の向上が見られたが、5 年生存率は約 30% と、全身性非ホジキン病と比べ、治療成績は不良である。(2) 副作用として晩発性の神経毒性がある。(3) MTX に感受性を示さない腫瘍が 20% 以上はある。(4) 多くは再発し治療抵抗性となり、新たな治療スケジュールの開発が待たれている。今回の研究では、HD-MTX 療法を施行した PCNSL 腫瘍組織のゲノム解析を行うことにより (1) HD-MTX に感受性を示し、予後良好な腫瘍に高発現する遺伝子群を同定。(2) 治療の標的となりうる遺伝子を選択し、分子標的薬剤、抗体、siRNA などの創薬に向けた研究を展開する。(3) PCNSL の幹細胞を樹立し、MTX に対する耐性株を樹立し、薬剤耐性の分子機構について検討する。耐性克服による治療法の確立に向けた研究を展開する。などを目的とする。

2. 研究の進捗状況

PCNSL 対象症例について臨床サンプルと臨床情報の収集を行っている。すなわち、症例の年齢性別、KPS スコア、画像所見、髄液所見、治療法、治療効果、副作用、転帰について詳細な検討を行っている。腫瘍細胞から RNA、DNA、蛋白を抽出し、GeneChip、SNP アレイ、miRNA、プロテオーム解析を行っている。特に PCNSL 3 4 症例の GeneChip 解析 (遺

伝子発現解析) から患者の予後と関連する遺伝子 2 1 種類を統計学的方法を用いて選択し、それらの遺伝子の発現レベルから患者の予後を予測する方法を考案した (特許出願準備中)。これらの遺伝子を用いた場合、単に遺伝子発現解析からだけでなく検討するよりも治療法に拘らず患者の予後が良く予測できることが判明した。現在、これらの分子の蛋白レベルでの発現を免疫組織学的方法を用いて検討中である。SNP アレイ、miRNA 解析については各 26 例、23 例の解析が終了し、目標症例数 30 例の解析が終了した段階で統計解析に入る。また、プロテオーム解析から蛋白発現との関連についても検討を進める。mRNA、SNP アレイ、miRNA 解析から統合的に遺伝子解析を検討し、腫瘍の生物学的な特徴をパスウェイ解析を含めて検討の上、標的分子を絞り込み、創薬に向けた研究を進める予定である。

また、腫瘍組織から幹細胞の培養樹立を目標に準備を進めている。幹細胞を用いた薬剤耐性機構の解析は臨床的にも重要な課題であると考えられる。

3. 現在までの達成度

やや遅れている。目標症例数の集積に時間がかかっているため。

4. 今後の研究の推進方策

GeneChip、CGH アレイ、miRNA 解析から統計解析を進め、特に患者の予後と関連する遺伝子を選択する。それらの遺伝子を標的とした創薬の取り組み、さらには新しい診断方法の開発に向けた研究を進める。

PCNSL の幹細胞の樹立を進め、薬剤耐性機

構の研究も進める。

5. 代表的な研究成果
〔雑誌論文〕(計 17 件)

1. Yamanaka R, Saya H: Molecular targeted therapies for glioma. *Ann Neurol* 66:717-729, 2009. 査読有
2. Yamanaka R: Cellular and peptide based immunotherapeutic approaches for glioma. *Trends Mol Med* 14(5):228-235, 2008. 査読有
3. Fukai J, Yokote H, Yamanaka R, Nishio K:他 3 名 3 番目: EphA4 promotes cell proliferation and migration through a novel EphA4-FGFR1 signaling pathway in the human glioma U251 cell line. *Mol Cancer Ther* 7(9):2768-2678, 2008. 査読有
4. Yamanaka R, 他 11 名 1 番目: Results of treatment of 112 cases of primary CNS lymphoma. *Jpn J Clin Oncol* 38(5): 373-380, 2008. 査読有
5. Li J, Yamanaka R, 他 9 名 10 番目: Proteomic characterization of primary CNS diffuse large B-cell lymphomas. *J Neurosurg* 109(3):536-546, 2008. 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

1. Yamanaka R, Ikenaka K, et al.: Isolation and Characterization of an *N*-Linked Oligosaccharide That Is Increased in Glioblastoma Tissue and Cell Line. The 3rd Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology, Yokohama, May 11-14, 2009
2. 山中龍也, 西尾和人, 他: 包括的遺伝子発現情報を基にした悪性神経膠腫患者の予後を予測する遺伝子の探索、第 6 回日本臨床腫瘍学会、福岡、3 月 20 日-21 日、2008
3. 山中龍也, 池中一裕, 他: (ワークショップ) 高速液体クロマトグラフィーを用いた神

経膠芽腫組織内 N-結合型糖タンパク質糖鎖の分離、解析、第 67 回日本癌学会学術総会、名古屋、10 月 28 日-10 月 30 日、2008

〔図書〕(計 5 件)

1. Yamanaka R, Kajiwar K: Dendritic cell vaccine. In Yamanaka R (ed.), *Glioma: Immunotherapeutic approaches*. Landes Bioscience, Austin, Texas, In press.
2. Yamanaka R: Medical management of brain metastases from lung cancer. In Ana Lucia Abujamra (ed.), *Brain Tumor / Book 3*. InTech - Open Access Publisher, In press.
3. Yamanaka R: Immunotherapeutic approach for malignant glioma by alpha viruses as positive strand RNA viruses. pp125-140, In Erdmann VA, et al. (eds.), *Therapeutic ribonucleic acids in brain tumors*. Springer, 2009.
4. Yamanaka R: Alpha Viruses. pp 217-228, In Harrington KJ, et al. (eds.), *Viral therapy of cancer*. Wiley, London, 2008.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 悪性神経膠腫患者の予後予測方法。

発明者: 山中龍也、川口淳、角間辰之

権利者: 久留米大学

種類: 特願

番号: 2010-084929

出願年月日: 平成 22 年 4 月 1 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 1 件)

名称: 神経膠腫細胞株 U251 の増殖能抑制剤及び浸潤能抑制剤

発明者: 山中龍也、佐野正和、矢島直樹

権利者: 新潟大学

種類: 特許

番号: 第 4474551 号

取得年月日: 平成 22 年 3 月 19 日

国内外の別: 国内

〔その他〕特になし