

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09506

研究課題名(和文) ショットガンプロテオミクスを用いた神経線維腫の悪性化機序解明と治療への応用

研究課題名(英文) To elucidate the mechanisms of developing malignant peripheral nerve sheath tumor in neurofibroma using shut-gun proteome analysis

研究代表者

江森 誠人 (Emori, Makoto)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：20580286

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)：悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)は良性の神経線維腫から悪性化することで発症することが多い。MPNSTは化学療法に抵抗性で外科的切除のみが現在の唯一の治療法である。しかし局所再発率も25%-37%と高率で、5年生存率は39-60%程度と予後不良であり、外科的切除のみでは予後改善が困難であることを示している。本研究では、神経線維腫とMPNSTのショットガンプロテオーム解析による網羅的タンパク質解析から、MPNSTにおいて、複数のプロテアソームサブユニットの発現が亢進していることを見出した。またプロテアソーム阻害剤がMPNST由来の細胞株で抗腫瘍効果があることを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経線維腫症1型患者が悪性腫瘍を合併する割合は、健常人と比較して約4倍高い。しかし多くの病変が小児期に生じるのに対して、悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)を含めた悪性腫瘍は20-50歳代に多く発生するため、十分な患者教育も行われておらず、巨大な悪性腫瘍が形成されてから来院するため、治療に難渋し予後も不良である。MPNSTは悪性軟部腫瘍の標準治療として用いられる化学療法に抵抗性であり、現在でも手術加療しか有効な治療法が確立できていない。本研究によりプロテアソーム阻害剤がMPNSTに対する新しい治療法になりうることを示した。

研究成果の概要(英文)：Malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNST) are rare and account for 2% of soft tissue sarcomas. Despite multidisciplinary therapy, the prognosis of MPNST remains truly dissatisfactory, with 5-year-survival rates between 39 and 60%. Complete resection with adequate surgical margins is the treatment mainstay. Therefore, a new treatment strategy should be established. We found the high expression of many proteasome-related proteins in MPNST using shut-gun proteome analysis. Moreover, inhibitors of proteasome showed the antitumoral effect in MPNST cell line.

研究分野：軟部肉腫、融合遺伝子、プロテオミクス

キーワード：軟部肉腫 神経線維腫 悪性末梢神経鞘腫瘍 プロテオーム プロテアソーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経線維腫症 1 型 (NF1) は皮膚をはじめ、各種臓器に多彩な病変を生ずる遺伝性疾患である。NF1 患者では健常人よりも高率に悪性腫瘍を合併し、中でも悪性末梢神経鞘腫瘍 (MPNST) が最も多い。MPNST は良性の神経線維腫から悪性化することで発症する。

NF1 患者において、その発生頻度は約 10% と高率であり、NF1 患者の予後を規定する重要因子である。

MPNST は化学療法に抵抗性で外科的切除のみが現在の唯一の治療法である。

しかし局所再発率も 25% - 37% と高率で、5 年生存率は 39 - 60% 程度と予後不良であり、外科的切除のみでは予後改善が困難であることを示している。

MPNST は比較的稀な腫瘍であるため、多くの臨床試験では他の悪性軟部腫瘍を含めた形で行われる。

これまでチロシンキナーゼ阻害薬である分子標的治療薬を用いた新規臨床試験が複数行われてきたが、いずれも抗腫瘍効果を認めず、現在でも有効な治療法が開発されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ショットガンプロテオーム解析を用いて、神経線維腫から MPNST が発生する悪性化分子機序を解明し新規治療法を確立することである。

すでに神経線維腫と MPNST のショットガンプロテオーム解析による網羅的タンパク質解析から、MPNST において、複数のプロテアソームサブユニットの発現が亢進していることを見出した。そこでプロテアソームに着目した MPNST に対する新規治療法の確立を行う。

3. 研究の方法

(1) ショットガンプロテオーム解析による網羅的タンパク質解析

(2) NF 組織と MPNST 組織におけるプロテアソーム関連タンパクの発現確認 (免疫染色)

(3) プロテアソーム阻害剤の MPNST 細胞 (SNF96.2, SCC24, SCC94) に対する *in vitro* での抗腫瘍効果 (WST assay)

(4) プロテアソーム阻害剤の MPNST 細胞 (SNF96.2, SCC24, SCC94) に対するアポトーシス誘導

(5) プロテアソーム阻害剤の MPNST 細胞 (SNF96.2, SCC24, SCC94) に対する *in vivo* での抗腫瘍効果

4. 研究成果

(1) 同一患者で 3 回 MPNST を外科的に切除した症例の FFPE 組織から、神経線維腫と MPNST のレーザーマイクロダイセクションにより腫瘍切片を切り出し、タンパク質を抽出した。

同一患者の 3 病変を候補としたのはすべての病変の遺伝背景が同じである利点がある。

これら 3 病変に共通で MPNST に有意に増加していたタンパク質は 321 種、神経線維腫に有意に増加していたタンパク質は 18 種であった。

増加したタンパク質群の KEGG pathway 解析で、MPNST ではタンパク質合成・プロセッシング・分解過程の全てが活性化され、特にプロテアソーム関連タンパクが多く増加 (Fold Enrichment: 7.93) していた。

そこで我々はプロテアソームに着目して機能解析を試みることにした。

(2) 神経線維腫と MPNST において、20S プロテアソーム 1 サブユニット、2 サブユニット、5 サブユニットに対する免疫組織染色を行った。

神経線維腫と比較して、多くの MPNST 症例で高発現していることを見出した。

(3)(4) プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブの MPNST 細胞株における細胞増殖の抑制とアポトーシスの誘導を確認した。

(5) いずれの細胞株においても Xenograft により腫瘍が形成されなかった。現在でもさまざまな免疫不全マウスを用いて腫瘍形成を検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Emori M, Tsuchie H, Teramoto A, Shimizu J, Mizushima E, Murahashi Y, Nagasawa H, Miyakoshi N, Yamashita T	4. 巻 23
2. 論文標題 Non-ossifying fibromas and fibrous cortical defects around the knee - An epidemiologic survey in a Japanese pediatric population	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Musculoskelet Disord	6. 最初と最後の頁 378
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12891-022-05330-9	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 Tsuchie H, Emori M, Nagasawa H, Murahashi Y, Mizushima E, Shimizu J, Yamashita T, Miyakoshi N	4. 巻 36
2. 論文標題 Risk Factors of Early Distant Metastasis After Primary Tumor Treatment in Soft Tissue Sarcoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 2260-2264
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo.12954	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 Sugita S, Sugawara T, Emori M, Aoyama T, Hosaka M, Segawa K, Fujita H, Hasegawa T	4. 巻 55
2. 論文標題 Atypical spindle cell/pleomorphic lipomatous tumor with a sarcomatous component showing high mitotic activity and Ki-67 labeling index: report of a unique case mimicking dedifferentiated liposarcoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol	6. 最初と最後の頁 323-328
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-022-00327-8	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 Kurihara K, Iba K, Teramoto A, Emori M, Hirota R, Oshigiri T, Ogon I, Iesato N, Terashima Y, Takashima H, Yoshimoto M, Takebayashi T, Yamashita T	4. 巻 35
2. 論文標題 Effect of Minimally Invasive Selective Laminectomy for Cervical Spondylotic Myelopathy on Degenerative Spondylolisthesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Spine Surg	6. 最初と最後の頁 E242 ~ E247
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/BSD.0000000000001161	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 堀田和志, 清水淳也, 舘田健児, 江森誠人, 小助川維摩他	4. 巻 48
2. 論文標題 大腿骨頭に発生した悪性骨腫瘍に対する広範囲切除後に坐骨の骨溶解像を認めた1例.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hip Joint	6. 最初と最後の頁 183-187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 江森 誠人
2. 発表標題 非骨化性線維腫と線維性皮質骨欠損の疫学調査
3. 学会等名 第55回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江森 誠人
2. 発表標題 疼痛を伴う神経鞘腫患者を対象としたタリージェの効果
3. 学会等名 第141回北海道整形災害外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江森 誠人
2. 発表標題 非骨化性線維腫と線維性皮質骨欠損の疫学調査
3. 学会等名 第95回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2022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	高澤 啓 (Takasawa Akira) (00593021)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	
研究分担者	高田 弘一 (Takada Kouichi) (90398321)	札幌医科大学・医学部・講師 (20101)	
研究分担者	村橋 靖崇 (Murahashi Yasutaka) (90855842)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	

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