

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月10日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591874

研究課題名（和文） 癌幹細胞の細分類に基づくヒト神経膠芽腫の新規治療標的の探索

研究課題名（英文） Investigation of new treatment target genes for GBM based on classification of GBM stem cells

研究代表者

秀 拓一郎（ HIDE TAKUICHIRO ）

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40421820

研究成果の概要（和文）：

膠芽腫組織から膠芽腫幹細胞の培養を行ない安定して増殖する膠芽腫幹細胞株を7例樹立し細分類を行なっている。また、これまで幹細胞マーカーとして報告されている分子の検討の中で、グリオーマの悪性度と相関し、膠芽腫組織の血管周囲や浸潤先端部で発現が強い分子を組織免疫学的検討で見出した。発現の高い部位は膠芽腫幹細胞が存在し、幹細胞ニッチを形成している部位と考えられ、治療の標的部位である。この遺伝子が膠芽腫の新規治療法標的となり得るか、現在解析中である。

研究成果の概要（英文）：

Seven of GBM stem cell from human GBM tissues were established. Classification of GBM stem cells is going now. A candidate of GBM stem cell marker was identified, which highly expressed in perivasucular area and invasion front where GBM stem cells and niche exist. Characterization of this gene for GBM stem cells is going on.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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

キーワード：癌幹細胞、神経膠芽腫、培養、治療

1. 研究開始当初の背景

(1) 膠芽腫は最も悪性の癌の一つであり、治療抵抗性で、手術後に放射線・化学治療を行ない、画像上腫瘍が消失していても、多くの場合1年以内に再発する。

(2) 白血病、乳癌、脳腫瘍を含む様々な腫瘍が、腫瘍形成能を有し組織幹細胞マーカー陽性である少数の幹細胞様癌細胞「癌幹細胞」と、大多数を占め腫瘍形成能の乏しい癌細胞から構成されていることが明らかに

された。

(3) 重要な治療標的となる癌幹細胞の性状決定により、治療困難な膠芽腫の新規治療法の確立が望まれていた。

2. 研究の目的

ヒト膠芽腫癌幹細胞の研究も徐々に進み出しているが、その起源細胞が不明であった。さらに症例毎に蓄積した遺伝子変異が異なるなどの問題もあり、新たな治療法

の確立は困難な現状であった。

そこで、ヒト膠芽腫癌幹細胞を用いたマイクロアレイ解析を行い、幹細胞の細分類別に、つまりは個別化した、より副作用が少なく有効性の高い、膠芽腫癌幹細胞を標的とした新たな治療法の確立を目的とした。

3. 研究の方法

(1)各症例において3つの培養条件で膠芽腫組織からの癌幹細胞の樹立を行ない、樹立した膠芽腫幹細胞における遺伝子発現をマイクロアレイで解析する。

(2) これまでに行なったマウス膠芽腫幹細胞モデル細胞に特異的に発現している遺伝子群等を参考に膠芽腫幹細胞の細分類を行なう。

(3) 細分類の臨床的意義を検討するとともに、治療標的候補遺伝子を探索する。

(4) *in vitro* の実験で治療標的遺伝子となり得るか検討し、次に、マウス移植モデルを用いて *in vivo* での効果を検討する。

(5) 膠芽腫の新規治療標的遺伝子の探索のため、幹細胞マーカーとして報告されてきているものについて組織免疫染色で検討を行なった。

4. 研究成果

(1) これまでに、3つの培養条件でヒト膠芽腫組織からの膠芽腫幹細胞の樹立を行なってきた。2か月間安定して増殖し凍結保存できたものは30症例以上あったが、解凍後再培養しても多くは増殖しなくなり、安定して増殖する膠芽腫幹細胞株は現在7株樹立できている。マウス脳内への移植実験を行ない、腫瘍形成能を確認している。

これらの細胞株についてはこれからマイクロアレイ解析を行ない、これまでに行なったマウス細胞に遺伝子導入して樹立した膠芽腫幹細胞のマイクロアレイデータから見出した遺伝子を候補遺伝子として細分類を行なう予定である。

(2) これまで幹細胞マーカーとして報告されている分子の検討の中で、グリオーマの悪性度と相関し、膠芽腫組織の血管周囲や浸潤先端部で発現が特に強い分子を組織免疫学的検討で見出した。この遺伝子は癌関連では大腸癌で報告があるだけで、ほとんど報告がない。この遺伝子の発現の高い部位は膠芽腫幹細胞が存在し、幹細胞ニッチを形成している部位と考えられ、治療の標的部位と考えられる。この遺伝子が膠芽腫の新規治療法標的となり得るか、現在解析中である。

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 10 件)

- 1 Makino K, Nakamura H, Hide T, Kuratsu JI. Salvage treatment with temozolomide in refractory or relapsed primary central nervous system lymphoma and assessment of the MGMT status. **J Neurooncol.** **106(1):155-60. 2012** (査読有)
- 2 Takezaki T, Hide T, Takanaga H, Nakamura H, Kuratsu JI, Kondo T. Essential role of the Hedgehog signaling pathway in human glioma-initiating cells. **Cancer Sci.** **29, 1306-1312, 2011** (査読有)
- 3 Hide T, Takezaki T, Nakatani Y, Nakamura H, Kuratsu J, Kondo T. Combination of a ptgs2 inhibitor and an epidermal growth factor receptor-signaling inhibitor prevents tumorigenesis of oligodendrocyte lineage-derived glioma-initiating cells. **Stem Cells.** **29, 590-9. 2011** (査読有)
- 4 Makino K, Nakamura H, Hide T, Kuratsu J. Risk of primary childhood brain tumors related to season of birth in Kumamoto Prefecture, Japan. **Childs Nerv. Syst.** **27, 75-78, 2011** (査読有)
- 5 矢野茂敏, 秀拓一郎, 倉津純一 プロラクチノーマに対する内視鏡下被膜摘出術の有用性と問題点. 日本内分泌学会雑誌 87 卷 Suppl. Page64-66 2011. (査読無)
- 6 矢野茂敏, 河野隆幸, 秀拓一郎, 工藤真励奈, 倉津純一: 内視鏡単独下垂体腫瘍摘出術の進歩 経験と改善から振り返った治療成績の変化, 日本内分泌学会雑誌 86 卷 Suppl. 57-59, 2010 (査読無)

- 7 山本文夫, 光藤尚, 伊藤康幸, 渡邊聖樹, 秀拓一郎, 森岡基浩, 平野照之, 高田明, 橋本洋一郎, 内野誠:ステロイドパルス療法直後に神経症候の増悪をきたした脊髄動静脈瘻の1例, 神経治療学 27(1):83-89, 2010 (査読有)
- 8 Hide T, Takezaki T, Nakatani Y, Nakamura H, Kuratsu J, Kondo T. Sox11 prevents tumorigenesis of glioma-initiating cells by inducing neuronal differentiation. **Cancer Res. 69, 7953-7959, 2009.** (査読有)
- 9 Kudo M, Jono H, Shinriki S, Yano S, Nakamura H, Makino K, Hide T, Muta D, Ueda M, Ota K, Ando Y, Kuratsu J, Antitumor effect of humanized anti-interleukin-6 receptor antibody (tocilizumab) on glioma cell proliferation. **J Neurosurg. 111, 219-225, 2009** (査読有)
- 10 秀拓一郎, 倉津純一, 脳腫瘍“癌幹細胞”の発見と治療への展開, BRAIN and NERVE 61, 781-789, 2009. (査読有)
- [学会発表] (計 21 件)
1. 秀拓一郎, 他: 非機能性下垂体腺腫に対する内視鏡的拡大蝶形骨洞手術の適応について, 第 21 回日本間脳下垂体腫瘍学会, 2012, 2, 25 東京ステーションコンファレンス (東京)
2. 秀拓一郎, 膠芽腫幹細胞 ~ 膠芽腫の治療の現状と研究の展望~, GCOE 特別セミナー (医科学教育セミナー) 2011, 12, 20, 東京大学医科学研究所 / 2 号館大講義室
3. 秀拓一郎, 他: オリゴデンドロサイト前駆細胞の形質転換に伴う遺伝子発現の変化, 第 29 回日本脳腫瘍学会, 2011, 11, 27, 水明館 (岐阜)
4. 秀拓一郎, 他: 中脳多房性 Virchow-Robin spaces の 1 例, 第 18 回日本神経内視鏡学会, 2011, 11, 18 ホテルグランヴィア岡山 (岡山)
5. Takuichiro Hide, et al: Alteration of gene expression profile in oligodendrocyte precursor cells transforming into glioma initiating cells, The 12th Young-Honam and Kyushu Neurosurgical Joint Meeting (2011, 11, 12, リーガロイヤルホテル小倉 (福岡))
6. 秀拓一郎, 他: グリオーマ幹細胞研究からのグリオーマ分子標的治療の可能性, 第 70 回日本脳神経外科学会総会, 2011, 10, 12 パシフィコ横浜 (神奈川県)
7. Takuichiro Hide, et al: SNP-microarray analysis to identify new prognosis markers on glioblastoma patients, International Symposium on Clinical and Basic Investigation in Glioblastoma, 2011, 6, 24, Science Museum (Valencia. Spain)
8. Takuichiro Hide, et al: Glioblastoma-initiating cells transformed from oligodendrocyte precursor cells are sensitive for the combination of Cox2 inhibitor and EGFR inhibitor, 8th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology. 2011, 5, 26 (Suzhou, China)
9. 秀拓一郎, 他: MAP2 と GFAP の発現からみたグリオブラストーマ症例の長期予後予測, 第 29 回日本脳腫瘍病理学会, 2011, 5, 22 タワーホール船橋 (東京)

10. 秀拓一郎, 他 : 間脳発生膠芽腫の臨床的特徴, 第 21 回日本間脳下垂体腫瘍学会, 2011, 3, 12 秋葉原コンベンションホール (東京)
 11. 秀拓一郎 : グリオーマ幹細胞 ~新たな治療標的としての可能性~, 千葉がんシンポジウム 2010、2011, 1, 15, 幕張メッセ (千葉)
 12. 秀拓一郎, 他 : 軟性鏡とナビゲーションを用いた two burr hole technique が有用であった頭蓋内多房性嚢胞の 2 症例, 第 17 回日本神経内視鏡学会, 2010, 12, 11, 幕張メッセ (千葉)
 13. 秀拓一郎, 他 : 視床・基底核部膠芽腫の臨床的特徴, 第 28 回日本脳腫瘍学会, 2010, 11, 29 軽井沢プリンスホテル (長野)
 14. Takuichiro Hide, et al : Sox11 prevents tumorigenesis of glioma-initiating cells, The 15th Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, 2010, 11, 19 , (Montreal, Canada)
 15. 秀拓一郎, 他 : グリオブラストーマの新規の予後予測因子の検討, 第 69 回日本脳神経外科学会総会, 2010, 10, 28 福岡国際会議場 (福岡)
 16. 秀拓一郎, 他 : SNP-microarray 法を用いたグリオブラストーマの予後因子の検討,
第 11 回日本分子脳神経外科学会 2010. 8. 28 東北大学 (仙台)
 17. Takuichiro Hide, et al : Sox11 prevents tumorigenesis of glioma-initiating cells. 7th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology. 2010, 6 11, JW Marriott Hotel Seoul (Seoul, Korea)
 18. 秀拓一郎, 他 : 新規遺伝子を標的としたグリオブラストーマ幹細胞の治療戦略, 第 28 回日本脳腫瘍病理学会 2010, 5, 22, 大阪中央公会堂 (大阪)
 19. 秀拓一郎, 他 : グリオブラストーマ幹細胞に対する治療標的遺伝子, 第 27 回日本脳腫瘍学会, 2009, 11, 8, りんくう国際会議場 (大阪)
 20. Takuichiro Hide, et al : A Treatment-target-gene Focusing on Glioma Initiating Cells. The International Symposium of Pediatric Neuro-oncology for the 50th Anniversary of Taipei Veterans General Hospital and the Annual Scientific Meeting of Chinese Medical Association, 2009, 10, 31, (Taipei)
 21. Takuichiro Hide, et al : Establishment of artificial glioblastoma initiating cells in mice. The 3rd quadrennial meeting of the World Federation of Neuro-Oncology, 2009, 5, 12, パシフィコ横浜 (神奈川)
- [その他]
ホームページ等
文部科学省科学研究費新学術領域研究,
がん研究分野の特性を踏まえた支援活動
研究者紹介ホームページ (秀拓一郎)
<http://ganshien.umin.jp/public/research/spotlight/hide/index.html>
6. 研究組織
(1) 研究代表者
秀 拓一郎 (HIDE TAKUICHIRO)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 40421820
- (2) 研究分担者
倉津 純一 (KURATSU JUN-ICHI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号 : 20145296

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

牧野 敬史 (MAKINO KEISHI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教
研究者番号：90381011