

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 5 月 16 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21791350

研究課題名（和文）ヒト脳腫瘍サンプルにおけるオートファジーモニタリングと組織学的検討

研究課題名（英文）The monitoring of autophagy in human brain tumor samples and pathological analysis

研究代表者

梶田 学 (NATSUMEDA MANABU)

新潟大学・脳研究所・非常勤講師

研究者番号：00515728

研究成果の概要（和文）：グリオーマ組織におけるオートファジーモニタリングは培養細胞では評価可能であるが、グリオーマ摘出標本におけるモニタリングは確立されていない。そこで、今回、免疫染色法及び Western blot 法を用いてグリオーマ摘出標本におけるオートファジーモニタリングの手法を確立した。また、テモゾロミド療法前後の摘出標本を評価比較し、テモゾロミドによるオートファジーの誘導を初めて報告した。

研究成果の概要（英文）： The induction of autophagy is effectively monitored in glioma cell cultures. However, the monitoring of autophagy in gliomas has not been established in surgically removed tissues. A new method to monitor autophagy in surgically removed brain tumor tissue employing immunohistochemistry and Western blotting was established, and induction of autophagy was detected after temozolomide treatment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

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：オートファジー、神経膠腫、テモゾロミド、抗 LC3B 抗体、免疫染色法、Western blot 法

1. 研究開始当初の背景

オートファジーは細胞内小器官や蛋白質の、リソソームによる代謝機構である。飢餓などのストレス条件下で誘導されることが知られている。癌の治療においては、薬剤耐性との関連が注目されている。これまで申

請者らのグループは、in vitro の研究により、グリオーマ細胞株が TMZ に曝露されることによりオートファジーが誘導されることを明らかにした。

2. 研究の目的

免疫染色法及び Western blot 法を用いた、グリオーマ摘出標本におけるオートファジーモニターングを評価し、テモゾロミドによるオートファジーの誘導を検討した。

3. 研究の方法

テモゾロミド療法前後のグリオーマ摘出標本 14 症例 28 標本を対象とした。マクロオートファジーの誘導は抗 LC3B 抗体, 抗 LAMP1 抗体を用いて, シャペロン介在性オートファジーの誘導は抗 LAMP2A 抗体を用いて, それぞれの陽性率を半定量的に評価した。また, Western blot 法を用いた LC3B 発現解析を行った。

4. 研究成果

その結果, 全例において免疫染色で評価可能であった。テモゾロミド療法前と比べ, テモゾロミド療法後にオートファジーが有意に誘導されていた。Western blot 法を用いた LC3B 発現解析でも, テモゾロミド療法後の症例で LC3B-I 及び LC3B-II 発現が増加した。この結果から, テモゾロミドによりオートファジーが誘導されることが示唆された。グリオーマ摘出標本におけるオートファジーモニターングの手法を確立し, テモゾロミド療法後のオートファジーの誘導を初めて報告した点が, 本研究の最大の特長である。

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 1 件)

① Natsumeda M, Aoki H, Miyahara H, Yajima N, Uzuka T, Toyoshima Y,

Kakita A, Takahashi H, Fujii Y.

Induction of autophagy in temozolomide treated malignant gliomas.

Neuropathology. 2011 Oct;31(5):486-93.

doi: 10.1111/j.1440-1789.2010.01197.x.

[学会発表] (計 6 件)

①発表者名 棗田 学

2011 年 5 月 21 日 第 29 回日本脳腫瘍病理学会 (東京) 「Pseudoprogression 症例における MGMT 発現及びオートファジー誘導の検討」

②発表者名 棗田 学

2010 年 11 月 30 日 新潟脳神経研究会例会 (新潟) 「悪性神経膠腫におけるオートファジーモニターング」

③発表者名 棗田 学

2010 年 10 月 28 日 第 69 回日本脳神経外科学会総会 (福岡) 「悪性神経膠腫におけるオートファジーモニターング」

④発表者名 棗田 学

2010 年 8 月 28 日 第 11 回日本分子脳神経外科学会 (仙台) 「悪性神経膠腫症例におけるテモゾロミド治療前後のオートファジーモニターング」

⑤発表者名 棗田 学

2010 年 8 月 6 日 第 40 回新潟大学脳研究所夏期セミナー (新潟) 「悪性神経膠腫におけるオートファジーモニターング」-中田瑞穂若手奨励研究賞受賞

⑥発表者名 棗田 学

2010 年 5 月 22 日 第 28 回日本脳腫瘍病理学会 (大阪) 「悪性神経膠腫症例におけるオートファジーモニターングと治療抵抗性獲得の検討」

[図書] (計 1 件)

① Natsumeda M, Aoki H, Fujii Y. The induction of autophagy in gliomas treated by temozolomide. In: Autophagy:

Principles, Regulation and Roles in Disease. In series: Cell Biology Research Progress. Ed Nikolai Gorbunov. Nova Science Publishers Inc: Hauppauge, NY, 2011.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

棗田 学 (NATSUMEDA MANABU)
新潟大学・脳研究所・非常勤講師
研究者番号： 00515728

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：