

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09171

研究課題名(和文) EphB4が誘導する上衣腫の悪性形質獲得分子機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of malignant trait acquisition molecules in ependymoma induced by EphB4

研究代表者

淑瑠 ヘムラサビット (Shukur, Hemrasabit)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：10432113

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：エフリンシグナルシステム(erythropoietin-producing hepatocellular receptor (Eph)/ephrin)は細胞間シグナルであり、EphB4が癌の悪性度に関連することが明らかにされた。頭蓋内腫瘍においてはEphB4シグナルと膠芽腫の関係について報告はあるものの上衣腫での研究は数に限りがあった。本研究を通して初めて上衣腫におけるEphB4受容体の発現を手術検体で調べることが実現し、その役割を分子生物学的に解明した。今後、EphB4阻害による新規上衣腫治療の可能性を見出せ上衣腫の薬剤治療の基盤形成に貢献できると確信する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本プロジェクトの遂行手法は手術材料、培養細胞(タンパク、mRNA、蛍光二重染色、細胞ライブイメージングを含む)など多方面からのアプローチであり、組織から分子レベルまで及んだ申請者の豊富な経験を基に成立した最新技術・アイデアなどは、基礎実験から多数の臨床検体を用いた多面的な研究である。本研究成果は、未だ最適な化学療法が確立していない上衣腫の治療の発展に大きく貢献するものと期待される。分子標的治療は新たな治療手段として、難治性上衣腫や放射線治療および化学療法に低感度なケースにもっとも有効な治療結果をもたらすと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The ephrin signaling system (erythropoietin-producing hepatocellular receptor (Eph)/ephrin) is an intercellular signal, and EphB4 has been shown to be associated with cancer malignancy. Although there have been reports on the relationship between EphB4 signaling and glioblastoma in intracranial tumors, but the number of studies on ependymomas has been limited. Through this study, we were able to examine the expression of EphB4 receptor in ependymomas using surgical specimens for the first time and elucidate its role from a molecular biological perspective. In the future, we are confident that we will be able to discover the possibility of a new treatment for ependymoma by inhibiting EphB4 and contribute to the formation of the basis for drug treatment of ependymoma.

研究分野：脳腫瘍病理

キーワード：ependymoma EphB4 ephrin B2

1. 研究開始当初の背景

上衣腫は WHO 分類ではグレード II,III の原発性脳腫瘍で、小児から若年者の頭蓋内および脊髄に好発する。現在の上衣腫に対する治療は手術による摘出が最も有効とされているが、脳幹や脊髄などの重要な機能領域に発生した場合は、腫瘍を全摘出することは機能予後を維持する観点から不可能である。しかし、放射線及び化学療法抵抗性の腫瘍であり、新規化学療法の確立が喫緊の課題である。

Eph/ephrin シグナルの特徴は、膜貫通型の受容体チロシンキナーゼである Eph 受容体に ephrin (エフリン) と呼ばれる細胞膜に存在するリガンドが結合することによって両方向性に細胞内シグナルが伝達されることである。Eph 受容体は 16 種類 (EphA1-10、B1-6) ephrin は 8 種類 (ephrinA1-5、B1-3) 知られており、Eph/ephrin シグナルの機能として細胞の形状、動き、生存、増殖の調節、エンドサイトーシス、タンパク質分解切断に関わっているとされている。その他の機能として、染色体の増幅または喪失、発癌性シグナル伝達経路による転写調節、プロモータのメチル化および miRNA により癌の進行を促進させる可能性があるとともに腫瘍の微小環境調節にも重要とされており、乳癌、卵巣癌、肺癌など様々な癌腫で悪性形質の維持に関与していることが報告されている。近年、Eph 受容体の中で EphB4 は癌の悪性度に強く関与することが報告されて以来、EphB4 シグナルを標的とした薬剤の開発が進んでいる (Stephenson SA : Oncotarget, 2015)。申請者らは、ephrin-B2 による EphB4 リン酸シグナルは Akt 脱リン酸化を介して、既存のグリオーマ細胞株の遊走能と浸潤能を低下させることだけでなく、ephrin-B2 依存性 EphB4 シグナルは、遊走能・浸潤能を抑制する停留シグナルであり、浸潤領域での停留シグナル解除が腫瘍細胞の周囲組織への浸潤を促進することを明らかにした (Kawahara Y, Cancer, Lett. 2019)。一方で上衣腫における Eph/ephrin シグナルの関係性について、EphB2 を過剰発現させたことによりヒト上衣腫に類似した腫瘍が形成したとする報告 (Johnson RA, Nature, 2010) 以外はなく、EphB4 との研究は展開されていない。申請者は上衣腫における Eph/ephrin シグナルの発現の解析に着手し、準備的な実験から上衣腫の悪性度に EphB4, ephrin-B2 の高発現の関与を見出ししている。従って、本研究課題の学術的「問い」は治療抵抗性の上衣腫における EphB4 と ephrin-B2 は上衣腫の悪性形質のメカニズムに関与するかである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、細胞間伝達機構である EphB4/ephrin-B2 シグナルに着目し、上衣腫における発現系と上衣腫細胞に及ぼす影響を解析することである。

3. 研究の方法

上衣腫の手術検体と 2 種類の培養細胞株 EP1NS, NGT118 を使用した。パラフィン切片では

EphB1, B2, B3, B4, B6, ephrin-B2 を一次抗体とし Envision+ 法による免疫染色、蛍光染色を行った。凍結された手術検体と細胞株を用いて蛍光染色、Western blot, QRT-PCR 解析を行った。

4 . 研究成果

凍結検体、細胞株における EphB4 の mRNA 発現は正常脳と比較し高値を示した。腫瘍組織の EphB4 の免疫染色結果は Western blot によるタンパク発現レベルを支持する所見が得られた。また、NGT118 は正常脳、EP1NS と比較し EphB4/ephrin-B2 の発現が高く、siRNA による解析で EphB4 ノックダウンが確認できた。下流の signal pathway 解析により上衣腫の悪性形質に EphB4, ephrin-B2 の高発現と ERK, STAT3 シグナルの関与する可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 淑瑠ヘムラサビット
2. 発表標題 上衣腫におけるEphB4/ephrin B2の検討
3. 学会等名 第22回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 淑瑠ヘムラサビット
2. 発表標題 EphB4が誘導する上衣腫の悪性形質獲得分子機構の解明
3. 学会等名 第21回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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