

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 25 年 4 月 4 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010 年度～ 2012 年度

課題番号：22791335

研究課題名（和文） 悪性グリオーマ治療により誘導されるオートファジーのリアルタイムモニタリング

研究課題名（英文） Real-time monitoring of autophagy induced by treatment in malignant glioma

研究代表者

矢島 直樹 (YAJIMA NAOKI)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：10572159

研究成果の概要（和文）：

悪性グリオーマの標準治療薬であるテモゾロミドを含む種々の化学薬剤によってオートファジーが誘導されることが示された。また、これまで明らかになっていなかった治療開始後の経時的変化がタイムラプスイメージングによって把握されることとなった。オートファジー阻害剤を併用した条件でのデータも得られており、in vitro の実験においてより効果的な治療の組み合わせやタイミングを検討する際に非常に重要な情報になり得る。

研究成果の概要（英文）：

It has been shown that autophagy is induced by various chemotherapeutic drugs including Temozolomide, which is the standard treatment for malignant gliomas. Moreover, the serial induction of autophagy after the medical treatment, which was not clear, will be elucidated by employing time-lapse imaging. Data of combination treatment with autophagy inhibitors were obtained. These data can become very important information when verifying effective combinations and timing of treatments in vitro.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：脳神経外科学

科研費の分科・細目：悪性脳腫瘍

キーワード：オートファジー／モニタリング／悪性神経膠腫／

1. 研究開始当初の背景

近年、発癌や癌治療において誘導されるオートファジーの役割が注目されている。悪性神経膠腫において現在の標準治療であるテモゾロミドや放射線治療によってオートファジーが誘導されることが報告されており、アポトーシス、非アポトーシス細胞死、細胞周期、ユビキチン等との関連が示唆されているが、その役割については不明な点が多い。

2. 研究の目的

悪性神経膠腫の治療により誘導されるオートファジーを形態学的に、また、分子生物学的にモニタリングすることにより、腫瘍細胞内でのオートファジーの役割を解明し、新たな治療戦略への手掛りとするのである。

3. 研究の方法

Glioma cell line (U-87MG, U-373MG) に対する Temozolomide の抗腫瘍効果とその機序について *in vitro* で検討を行う。autophagy

inducer (rapamycin, RAD001) や autophagy inhibitor (3MA, bafilomycin A1, RTA 203) を使用し、オートファジーの役割を追究する。次に、悪性グリオーマ患者から摘出したサンプルを、autophagy (LC3: 免疫染色), apoptosis (TUNEL 染色、H-E 染色), cell cycle (MIB-1), temozolomide 耐性 (MGMT: 免疫染色), ユビキチン-プロテアソーム系蛋白質分解 (免疫染色) に注目し、*in vitro* の結果と比較検討する。Temozolomide の使用前後で比較を行い、生命予後との相関があるかを評価する。

4. 研究成果

悪性グリオーマの標準治療薬であるテモゾロミドを含む種々の化学薬剤によってオートファジーが誘導されることが示された。また、これまで明らかになっていなかった治療開始後の形態学的・分子生物学的な経時的変化をタイムラプスイメージングによって視覚的に把握できるようになった。オートフ

ファジー阻害剤を用いた実験でもオートファ
ゴゾームの蓄積を認め、その状態が維持され
るような経時的変化を捉えられた。テモゾロ
ミドとオートファジー阻害剤を併用した治
療実験では、これまでの実験結果を応用し、
治療のタイミングを変更して様々な条件で
のデータが得られた。今後はこれらの結果を
基にマウス脳腫瘍モデルを用いた治療実験
を行い、臨床応用を目指す。

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)

①Induction of autophagy in temozolomide
treated malignant gliomas.

Natsumeda M, Aoki H, Miyahara H, Yajima N,
Uzuka T, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi
H, Fujii Y.

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

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

[学会発表] (計 4 件)

①Role of autophagy in malignant glioma

treated with temozolomide. 6th
International Symposium on Autophagy
2012.10.28-11.1 Hiroshi Aoki, Ryosuke
Ogura, Manabu Natsumeda, Tsutomu
Kobayashi, Seichi Yoshida, Yukihiro Fujii

②悪性神経膠腫における Autophagy の役割.

第 1 2 回 分子脳神経外科学会、
2012.10.12-14、青木 洋、岡田 正康、小
倉 良介、小林 勉、藤井 幸彦

③ Monitoring autophagy in malignant
glioma with antibody against LC3B. 69th
Annual Meeting of the Japanese Cancer
Association, 2010.9.22-24, Hiroshi Aoki,
Manabu Natsumeda, Seiji Kondo, Yukihiro
Fujii

④LC3B 抗体を用いた悪性グリオーマのオー
トファジーモニタリング. The 11th Annual
Meeting of the Japan Society for Molecular
Neurosurgery, 2010.8.27-28, Hiroshi Aoki,
Manabu Natsumeda, Seiji Kondo, Yukihiro
Fujii

[図書] (計 0 件)

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢島 直樹 (YAJIMA NAOKI)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号 : 10572159

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

青木 洋 (AOKI HIROSHI)

新潟大学・脳研究所・助教

研究者番号 : 30515771