

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：16201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20712

研究課題名（和文）膠芽腫に対する(Pro)renin receptorを標的とした分子治療の基礎的研究

研究課題名（英文）molecular therapy targeted for (pro) renin receptor against glioblastoma

研究代表者

藤森 健司 (Fujimori, Takeshi)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00896417

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：PRR抗体のGBMに対する有効性を検討した。Human glioma cell lineとglioma stem cell lineを用い、cell proliferation、sphere formation、apoptosis、migrationにおいて各cell lineで有効性を認めた。また、U87MGを用いたin vivoの検討においても、腫瘍抑制効果を証明した。また、stemnessにも着目し、実病理検体でStemnessマーカーとPRRに相関があり、PRR抗体がstemnessの抑制効果も持つことを証明した。これらから、PRR抗体に世治療がGBM治療として成立しうると結論付けた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PRRはWnt/ -catenin signaling pathwayの関連分子として注目されており、多くの癌種においても腫瘍抑制効果が報告されている。一方、現在腫瘍研究においてstemnessはkey wordの一つである。PRRがより腫瘍増殖の根幹に関わるstemnessと関係することを示し、PRR抗体にstemnessの抑制効果があることを証明した。PRRに関わる研究の中でも、GBMにおけるstemnessとの関連は検討されておらず、学術的に意義のある結果となった。今後分子標的薬として実用化されれば、社会的にもより意義のある研究であったと言える。

研究成果の概要（英文）：The efficacy of PRR antibodies against GBM was investigated using human glioma cell lines and glioma stem cell lines, with each cell line showing efficacy in cell proliferation, sphere formation, apoptosis and migration. The efficacy was confirmed in each cell line in cell proliferation, sphere formation, apoptosis and migration. In vivo studies using U87MG also demonstrated tumour suppression. In addition, focusing on stemness, a correlation was found between stemness markers and PRR in pathological specimens, proving that PRR antibodies also have a suppressive effect on stemness. From these results, it was concluded that PRR antibodies could be used to treat GBM.

研究分野：脳血管障害

キーワード：(pro)renin receptor glioblastoma gliomagenesis Wnt signaling pathway

1. 研究開始当初の背景

PRR は癌の形成および進展を促進する Wnt- β シグナリル経路 (Wnt signaling) と PRR の関係が報告された (Cruciat et al, Science, 2010)。申請者らのグループは、神経膠腫において、悪性度に伴い PRR の発現が増加していることや、PRR のノックダウンにより、Wnt signaling を介して膠芽腫の増殖能を抑制していることを示した (図 2 参照: Ogawa et al, J Neurosurg, 2017)。この結果を受け、PRR 抗体を用いた膠芽腫に対する抗腫瘍効果を検討している。グリオーマ細胞株に対して PRR 抗体を投与したところ、明らかに腫瘍増殖能を抑制し、アポトーシスを誘導していた。さらに、グリオーマ幹細胞においても同様の傾向を示した。

しかし、多くの腫瘍株や検討方法で多角的に検討する必要がある。PRR 抗体の臨床応用を念頭におくと、抗体のロットを最適化することや、In vivo において抗腫瘍効果を確認することが必須の課題であった。また、予備実験において、グリオーマ幹細胞に対しても増殖能の抑制効果を認めた。PRR 抗体がグリオーマ幹細胞に対する抗腫瘍効果があることが示唆された。PRR と幹細胞が密接に関わっているかを実証するため、PRR 抗体によるグリオーマ幹細胞への抑制効果を多角的に検討する必要がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は PRR 抗体が Wnt signaling 及びグリオーマ幹細胞を抑制することで、膠芽腫に対し高い抗腫瘍効果を発揮していることを示し、新規治療薬を確立することである。

3. 研究の方法

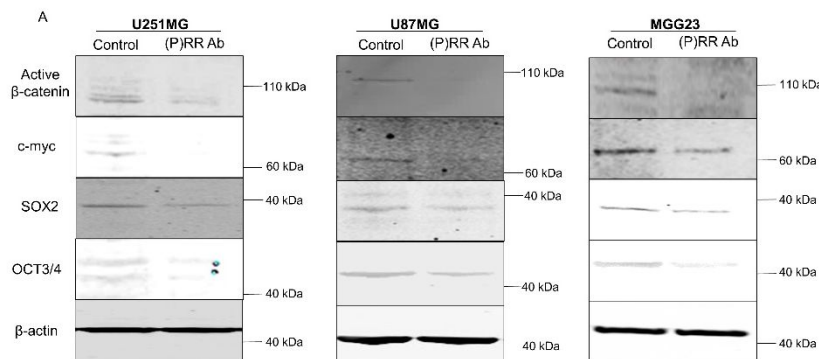
PRR 抗体の抗腫瘍効果を in vitro において評価した。グリオーマ細胞株 (U87MG、U251MG、T98G) だけでなく、浮遊培養法で樹立した膠芽腫患者のグリオーマ幹細胞株 (MGG23、MGG8) においても検討を行った。腫瘍増殖能は WST-1 assay や MTT assay、アポトーシスはフローサイトメトリー、Caspase 3 assay、浸潤能はスクラッチアッセイを用いた。ウェスタンブロッティングにて、Wnt signaling の関連分子や幹細胞マーカーが抑制されているか、検証し、抗体は複数のロットで検討し、最適化する。

PRR 抗体の抗腫瘍効果を in vivo において評価した。グリオーマ細胞株 (U87MG) を免疫不全マウスの皮下に移植し、PRR 抗体を腹腔内投与し、抗腫瘍効果を検証した。

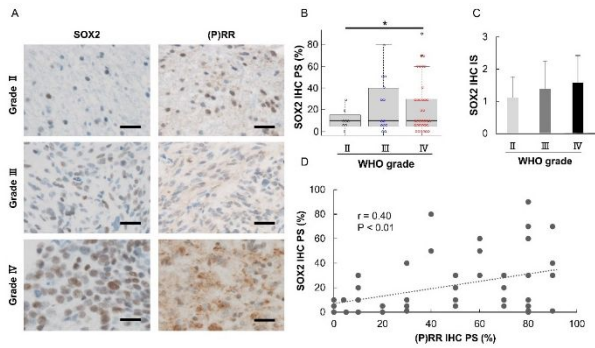
PRR と幹細胞の関連の評価を行った。過去に当院で摘出を行ったグリオーマ例の病理検体を用いた。PRR と幹細胞マーカー (SOX2) の免疫染色を行った。染色率を算出し、PRR と SOX2 の染色率が相関していることの証明を試みた。

4. 研究成果

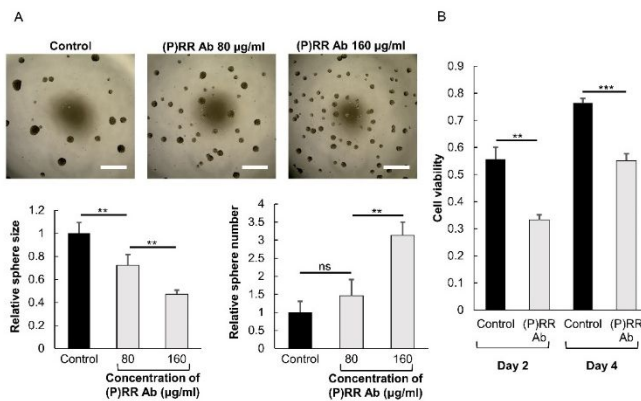
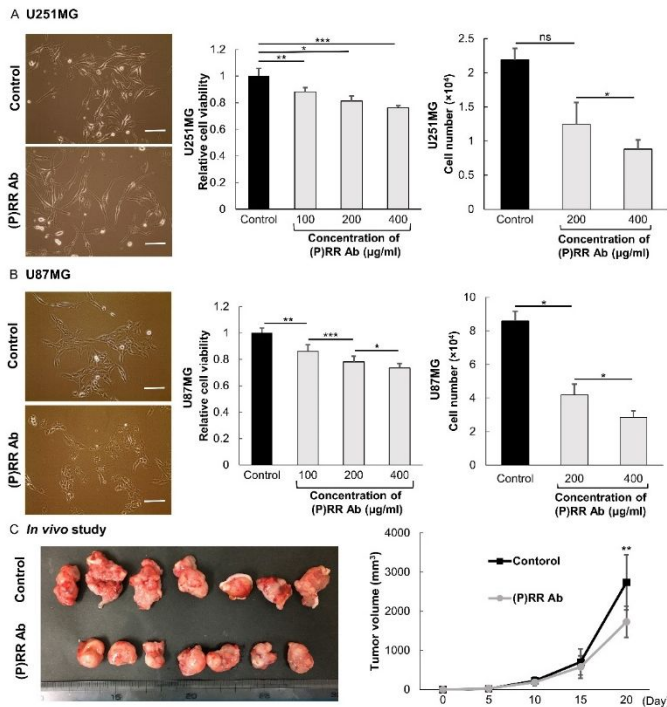
ウェスタンブロッティングにおいて、Wnt signaling の関連分子 (β catenin、c-myc) や幹細胞マーカー (c-myc、Oct3/4、SOX2) が PRR 抗体によって抑制された。



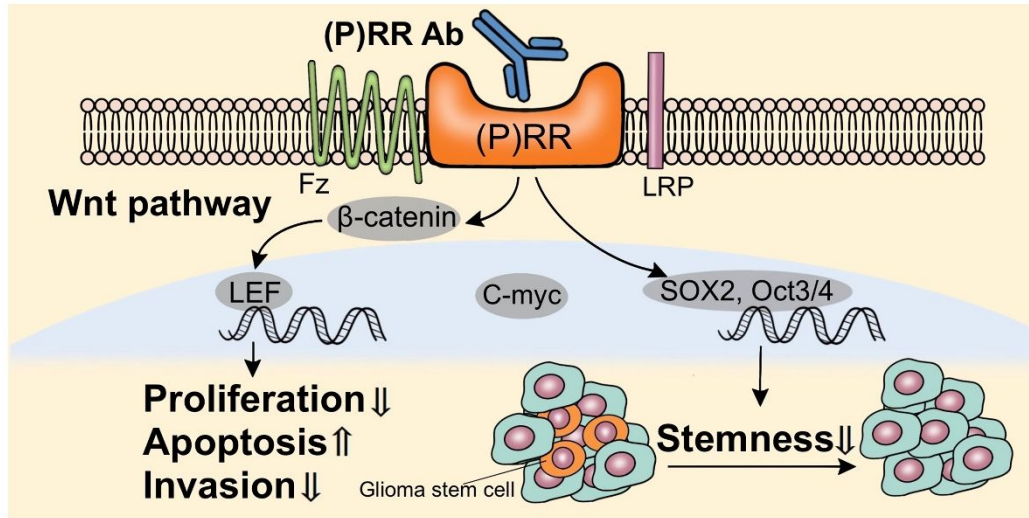
病理検体を用いた免疫染色において、PRR と SOX2 の発現は相関していた。



In vitro study において、グリオーマ細胞株は U87MG 及び U251MG、グリオーマ幹細胞株は MGG23、を用いて結果を示した。予備実験結果と併せて、cell viability の抑制効果を認めた。In vivo study においても腫瘍増殖抑制効果を認めた。Flow cytometry では、apoptosis が誘導し、Wound healing assay では浸潤能が抑制されていた。



これらの結果をまとめて、PRR 抗体は GBM の治療戦略となり得ると結論付け、Scientific reports に掲載された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujimori Takeshi, Shibayama Yuki, Kanda Takahiro, Suzuki Kenta, Ogawa Daisuke, Ishikawa Ryou, Kadota Kyuichi, Matsunaga Toru, Tamiya Takashi, Nishiyama Akira, Miyake Keisuke	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of a monoclonal antibody against (pro)renin receptor on gliomagenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 808
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-28133-x	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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木健太、菅田峻光、藤森健司、小川大輔、柴山弓希、西山成、三宅啓介
2. 発表標題 神経膠芽腫細胞に対する希少糖D-alloseの抗腫瘍効果
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 鈴木健太、菅田峻光、藤森健司、小川大輔、柴山弓希、西山成、三宅啓介
2. 発表標題 神経膠芽腫細胞に対する希少糖D-alloseの抗腫瘍効果（ポスター）
3. 学会等名 第81回 日本脳神経外科学会 学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅田峻光、鈴木健太、藤森健司、小川大輔、Asadur Rahman、秋光和也、何森健、西山成、三宅啓介
2. 発表標題 希少糖の膠芽腫の対する抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第10回Neuro-Oncology WEST
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅田峻光、鈴木健太、藤森健司、小川大輔、Rahman Md Asadur、秋光和也、西山 成、三宅啓介
2. 発表標題 神経膠芽腫細胞に対する希少糖 D-アロースの糖代謝抑制効果
3. 学会等名 一般社団法人日本脳神経外科学会 第 82 回 学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木健太、菅田峻光、藤森健司、小川大輔、西山成、三宅啓介
2. 発表標題 神経膠芽腫細胞に対する希少糖 D-Allose の抗腫瘍効果
3. 学会等名 第 41 回 日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅田峻光、鈴木健太、藤森健司、小川大輔、Asadur Rahman、秋光和也、何森 健、西山 成、三宅啓介
2. 発表標題 希少糖による Warburg 効果への挑戦
3. 学会等名 Neuro-Oncology WEST
4. 発表年 2023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
---------	---------