

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659686

研究課題名(和文)脳血管障害研究の新展開【脳血管障害とCCNファミリー分子CYR61】

研究課題名(英文)Novel molecular target for cerebrovascular disease: CYR61 as angiogenic inducer

研究代表者

伊達 勲 (Date, Isao)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：70236785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：脳血管障害に対し、分泌蛋白CYR61の発現変化について検討し、分泌蛋白CYR61療法による血管新生などの治療を行う。CYR61プラスミドはコラボレーターから供与を受け、CYR61に対する効果的なshRNAを選別し、CYR61蛋白の至適濃度を確認した。脳血管障害研究の前段階として、脳腫瘍による発現解析も行った。CYR61は成人膠芽腫及び小児悪性神経膠腫いずれにおいても予後と相関し、悪性神経膠腫の予後を示す重要なマーカーとなる可能性が示唆された。現在、脳血管攣縮モデル、動脈硬化ウサギモデル、もやもや病モデルにおける、分泌蛋白CYR61の発現解析を行っている。

研究成果の概要(英文)：We study the expression levels of the secreted protein cysteine-rich angiogenic-inducer 16 (CYR61) in patients with cerebrovascular disease and aim to develop a therapeutic strategy for CYR61. We received a CYR61-expressing plasmid from collaborators and identified an effective shRNA against CYR61. In brain tumor patients, multivariate Cox analysis revealed that CYR61 was an independent prognostic factor of survival. Now, we are evaluating the expression levels of CYR61 in different models of cerebrovascular disease.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳血管障害学 CCNファミリー

1. 研究開始当初の背景

くも膜下出血後に生じる脳血管攣縮は、未だなお特效薬のない難治性疾患であり、死亡率、後遺症併発率も依然高率である。また、動脈硬化による頭蓋内外血管狭窄症、あるいは脳卒中の主な原因のひとつである脳動脈瘤、難治性であるもやもや病（特定疾患）や脳動静脈奇形は、社会的にも早期解決が望まれている疾患である。今までに我々はこれらの疾患に対し、遺伝子治療や脳血管蛋白セラピーを世界に先駆け行ってきた。

一方、応募者らは、脳腫瘍の領域において、悪性グリオーマに対するオンコリティックウイルス（OV）療法における腫瘍微小環境、さらには、腫瘍血管の変化について検討してきたが、その過程で、OV 療法における血管新生因子の分泌蛋白であるcysteine-rich protein 61 (CYR61)の発現が変化しているのを発見した。分泌蛋白CYR61 の発現がどのように腫瘍、ウイルス療法において影響しているか検討中であるが、近年、脳虚血、脳血管障害の領域においても分泌蛋白CYR61 の発現が上昇しているという報告があり、その働きについてはわかっていない。

今回我々は、高齢化社会において増加中の動脈硬化による頭蓋内外血管狭窄症、あるいは脳卒中の主な原因のひとつである脳動脈瘤、難治性であるもやもや病（特定疾患）や脳動静脈奇形に対し、分泌蛋白CYR61 の発現変化について検討し、分泌蛋白CYR61 療法をおこない、血管内皮細胞を活性化させることにより血管新生などの治療を行う。脳血管障害の遺伝子治療に関しては、岡山大学では、世界に先駆け脳血管攣縮の実験的遺伝子治療を開始しており、その成果を十年来積み重ねており、高い評価を得ている。

2. 研究の目的

脳血管攣縮モデルにおいて、CYR61の発現を調べる。動脈硬化ウサギモデルにおいて、分泌蛋白CYR61の発現について調べ、頭蓋内動

脈硬化の予防効果や動脈硬化病変の変化などについて検討をおこない、血管内皮細胞増殖因子（vascular endothelial growth factor; VEGF）と分泌蛋白CYR61をもやもや病モデルに投与し、血管新生の可能性についても検討する。次に、第二段階として、分泌蛋白CYR61と血管内治療を組み合わせた治療の可能性も模索する。つまり、イヌ脳動脈瘤、脳動静脈奇形モデルやウサギ頸動脈狭窄モデルにおいてプラチナコイルに分泌蛋白CYR61を融合させ、血管内皮の増殖作用より脳動脈瘤、脳動静脈奇形を塞栓する試みや、動脈硬化を強く抑制する分泌蛋白CYR61とステントの融合による内頸動脈狭窄病変の実験的治療を試みる。

3. 研究の方法

- 1) CYR61 プラスミド、shRNA、CYR61 抗体、CYR61 蛋白などに関して本研究のセットアップを行う。
- 2) 脳血管攣縮モデル、動脈硬化ウサギモデル、もやもや病モデルにおいて、分泌蛋白CYR61 の発現について調べる。
- 3) In vivo において、CYR61 を強発現または抑制することにより、それぞれのモデルに対してどのような影響があたえられるかについて検討する。
- 4) 分泌蛋白CYR61 を用いて頭蓋内動脈硬化の予防効果や動脈硬化病変の変化などについて検討し、もやもや病モデルに投与し、血管新生の可能性についても検討する。
- 5) 細胞膜透過性蛋白、11R を用いた蛋白テラ
- 6) 分泌蛋白CYR61と血管内治療を組み合わせた治療の可能性も模索する。
- 7) 統計学的データ解析を行い、学会発表・論文投稿する。

4. 研究成果

CYR61 プラスミドはコラボレーターから供与をうけた。分泌蛋白CYR61の発現変化について検討し、分泌蛋白CYR61療法により、血管新生などの治療を行うために、CYR61タンパ

クプラスミドのセットアップはできた。また、CYR61に対する活性を抑える効果的なshRNAを選別し、CYR61蛋白の至適濃度を確認した。脳血管攣縮モデル、動脈硬化ウサギモデル、もやもや病モデルが一定の状態で作成できるようにした。現在、脳血管攣縮モデル、動脈硬化ウサギモデル、もやもや病モデルにおけるCYR61の発現解析を行っているところである。

脳血管障害研究の前段階として、脳腫瘍による発現解析も行った。CYR61は成人膠芽腫及び小児悪性神経膠腫いずれにおいても予後と相関し、悪性神経膠腫の予後を示す重要なマーカーとなる可能性が示唆された。

また、イヌ脳動脈瘤、脳動静脈奇形モデルやウサギ頸動脈狭窄モデルの作成をトライしている。プラチナコイルに分泌蛋白CYR61を融合させ、血管内皮の増殖作用より脳動脈瘤、脳動静脈奇形を塞栓する試みを企ており、さらに、動脈硬化を強く抑制する分泌蛋白CYR61とステントの融合による内頸動脈狭窄病変の実験的治療を計画している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9件)

1. Gene expression profiling of the anti-glioma effect of cilengitide Onishi M, Kurozumi K, Ichikawa T, Michiue H, Fujii K, Ishida J, Shimazu Y, Chiocca EA, Kaur B, Date I SpringerPlus 2:160: doi:10.1186/2193-1801-2-160, 2013 (査読有)
2. The integrin inhibitor cilengitide enhances the anti-glioma efficacy of vasculostatin-expressing oncolytic virus Fujii K, Kurozumi K, Ichikawa T, Onishi M, Shimazu Y, Ishida J, Chiocca EA, Kaur B, Date I Cancer Gene Therapy 20(8): 437-444, 2013 doi: 10.1038/cgt.2013.38. (査読有)
3. Mechanisms of tumor development and anti-angiogenic therapy in glioblastoma multiforme Onishi M, Kurozumi K, Ichikawa T, Date I Neurologia medico-chirurgica 53(11): 755-763, 2013 (査読有)
4. 脳神経外科疾患における血管新生促進

と血管新生抑制 もやもや病とグリオーマに関して 伊達 勲、菱川 朋人、黒住和彦 最新医学 68(12): 2672-2678, 2013 (査読有)

5. 脳幹部海綿状血管腫に対する直達手術9例の検討 黒住和彦、小野成紀、市川智継、三好康之、石田穰治、春間 純、徳永浩司、伊達 勲 脳卒中の外科 41(3): 213-218, 2013 (査読有)
6. グリオーマの浸潤の機序とその治療 黒住和彦、伊達 勲 Clinical Neuroscience 31(10): 1140-1142, 2013 (査読有)
7. 小児テント上悪性星細胞腫における分子生物学的検討 血管新生因子 cystein rich protein 61 (CYR61) に着目して 石田穰治、黒住和彦、市川智継、大西 学、伊達 勲 小児の脳神経 38(2): 220-226, 2013 (査読有)
8. Cilengitide treatment of for malignant glioma: Current status and future direction Kurozumi K, Ichikawa T, Onishi M, Fujii K, Date I Neurologica medico-chirurgica 52(8): 539-547, 2012 (査読有)
9. 小児テント上悪性星細胞腫瘍に対する外科治療を含めた集学的治療の成績 黒住和彦、市川智継、小野成紀、伊達 勲 小児の脳神経 36(5): 467-472, 2011 (査読有)

〔学会発表〕(計 37件)

1. 第43回日本脳卒中の外科学会学術集会: STROKE 2014: 大阪, 2014.03.13 海綿状血管腫手術における術中画像支援の有用性 黒住和彦、徳永浩司、菱川 朋人、上利 崇、亀田雅博、市川智継、伊達 勲
2. 第24回日本間脳下垂体腫瘍学会: 福岡, 2014.02.22 成長ホルモン産生性下垂体腫瘍に対する神経内視鏡単独手術と術中画像支援の有用性 黒住和彦、亀田雅博、安原隆雄、稲垣兼一、大塚文男、伊達 勲
3. 第76回岡山内分泌同好会: 岡山, 2014.02.12 成長ホルモン産生性下垂体腺腫手術における術中画像支援の有効性 黒住和彦、亀田雅博、安原隆雄、伊達 勲、稲垣兼一、大塚文男
4. 第31回日本脳腫瘍学会学術集会: 宮崎, 2013.12.08 悪性神経膠腫成人例と小児例における血管新生因子 cystein rich protein 61 の発現解析 黒住和彦、石田穰治、市川智継、大西 学、藤井謙太郎、島津洋介、岡 哲生、伊達 勲
5. 18th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology: San Francisco, U.S.A., 2013.11.22 Gene expression profiling of the anti-glioma effect of Cilengitide Kurozumi K, Onishi M,

- Ichikawa T , Fujii K , Ishida J , Shimazu Y , Chiocca EA , Kaur B , Date I
6. 第 20 回日本神経内視鏡学会：甲府，2013.11.08 術中画像支援併用による経鼻的神経内視鏡単独手術（シンポジウム）黒住和彦、亀田雅博、安原隆雄、市川智継、小野成紀、伊達 勲
 7. （一社）日本脳神経外科学会第 72 回学術総会：横浜，2013.10.16 多視点 3D 解剖システムによる頭蓋底手術シミュレーション黒住和彦、菱川朋人、亀田雅博、安原隆雄、徳永浩司、武田吉正、大塚愛二、眞鍋博明、伊達 勲
 8. 第 18 回日本脳腫瘍の外科学会：大津，2013.09.20 多視点 3D 解剖システムによる頭蓋底手術シミュレーション黒住和彦、菱川朋人、亀田雅博、安原隆雄、徳永浩司、武田吉正、大塚愛二、伊達 勲
 9. 第 18 回日本脳腫瘍の外科学会：大津，2013.09.20 経鼻的神経内視鏡単独手術の現状と画像支援の有用性（シンポジウム）黒住和彦、亀田雅博、安原隆雄、市川智継、小野成紀、伊達 勲
 10. XV WFNS World Congress of Neurosurgery (WFNS 2013) : Seoul, Korea, 2013.09.10 Omics analysis of the anti-glioma effect by vasculostatin expressing oncolytic viral therapy combined with cilengitide Kurozumi K , Fujii K , Ichikawa T , Onishi M , Ishida J , Shimazu Y , Chiocca EA , Kaur B , Date I
 11. 第 19 回日本遺伝子治療学会年次学術集会 (The 19th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy) : 岡山, 2013.07.05 Induction of an angiogenic factor, CYR61, in oncolytic viral therapy for malignant gliomas Kurozumi K , Ichikawa T , Fujii K , Shimazu Y , Onishi M , Ishida J , Chiocca EA , Kaur B , Date I
 12. 第 25 回日本頭蓋底外科学会：名古屋，2013.06.26 Cadaver を用いた多視点 3D 解剖システムによる頭蓋底手術シミュレーション（シンポジウム）黒住和彦、菱川朋人、亀田雅博、安原隆雄、徳永浩司、武田吉正、大塚愛二、伊達 勲
 13. 第 41 回日本小児神経外科学会：大阪，2013.06.08 小児脳室近傍腫瘍に対する神経内視鏡的アプローチの有用性 黒住和彦、市川智継、亀田雅博、小野成紀、大西 学、藤井謙太郎、石田穰治、島津洋介、伊達 勲
 14. 第 31 回日本脳腫瘍病理学会：東京，2013.05.25 小児テント上悪性星細胞腫における血管新生因子 cysteine rich protein 61 の分子生物学的検討 黒住和彦、石田穰治、市川智継、大西 学、藤井謙太郎、島津洋介、柳井広之、伊達 勲
 15. 第 22 回脳神経外科手術と機器学会：熊本，2013.04.13 頭蓋底手術シミュレーションにおける cadaver を用いた 3D display system の有用性 黒住和彦、菱川朋人、亀田雅博、安原隆雄、石田穰治、徳永浩司、武田吉正、大塚愛二、伊達 勲
 16. 第 42 回日本脳卒中の外科学会：STROKE 2013：東京，2013.03.21-23 後頭蓋窩海綿状血管腫に対する治療戦略 黒住和彦、徳永浩司、菱川朋人、市川智継、三好康之、石田穰治、春間 純、伊達 勲
 17. 第 23 回日本間脳下垂体腫瘍学会：鹿児島，2013.03.15-16 下垂体腺腫に対する神経内視鏡単独経鼻的摘出術の現状と展望 黒住和彦、小野成紀、亀田雅博、安原隆雄、伊達 勲
 18. 第 74 回岡山内分泌同好会：岡山，2013.02.06 下垂体腺腫に対する神経内視鏡単独経鼻的摘出術 黒住和彦、亀田雅博、伊達 勲、小野成紀
 19. 第 17 回関西脳神経外科手術研究会：大阪，2012.12.15 当施設におけるデュラシル TM ブルースプレーの使用経験 黒住和彦、三好康之、市川智継、亀田雅博、伊達 勲
 20. 第 30 回日本脳腫瘍学会学術集会：広島，2012.11.25-27 分子標的薬 cilengitide による抗グリオーマ効果のメカニズム 黒住和彦、市川智継、大西 学、藤井謙太郎、島津洋介、石田穰治、伊達 勲
 21. 第 19 回日本神経内視鏡学会：東京，2012.11.02-03 下垂体およびトルコ鞍近傍腫瘍に対する神経内視鏡単独経鼻的摘出術と今後の展望 黒住和彦、小野成紀、亀田雅博、伊達 勲
 22. 社）日本脳神経外科学会第 71 回学術総会：大阪，2012.10.17-19 分子標的薬 cilengitide における多様な抗グリオーマ効果のメカニズム 黒住和彦、大西 学、市川智継、藤井謙太郎、島津洋介、石田穰治、伊達 勲
 23. 第 39 回日本脳科学学会：北九州，2012.10.06 分子標的薬 cilengitide における多様な抗グリオーマ効果のメカニズム 黒住和彦、大西 学、市川智継、藤井謙太郎、島津洋介、石田穰治、伊達 勲
 24. 第 13 回日本分子脳神経外科学会：熊本，2012.09.20-21 グリオーマに対する腫瘍溶解ウイルス療法における Cysteine-rich 61 (CYR61) の発現 黒住和彦、市川智継、大西 学、藤井謙太郎、島津洋介、石田穰治、E Antonio Chiocca , Balveen Kaur 、伊達 勲
 25. 第 17 回日本脳腫瘍の外科学会：横浜，2012.09.07-08 脳室内・脳室近傍腫瘍に対する神経内視鏡的アプローチによる治療戦略 黒住和彦、市川智継、小野成紀、亀田雅博、大西 学、伊達 勲

26. 第 24 回日本頭蓋底外科学会：東京，2012.07.11-12 頭蓋底手術における cadaver を用いた 3D display system の有用性 黒住和彦、菱川朋人、亀田雅博、徳永浩司、眞鍋博明、武田吉正、大塚愛二、伊達 勲
27. 第 18 回日本遺伝子治療学会年次学術集会：熊本，2012.06.28-30 Integrin inhibitor cilengitide enhances anti-glioma efficacy of oncolytic viral therapy Kurozumi K, Ichikawa T, Fujii K, Shimazu Y, Onishi M, Ishida J, Chiocca EA, Kaur B, Date I
28. 第 40 回日本小児神経外科学会：岡山，2012.06.07-08 小児テント上悪性星細胞腫の集学的治療における手術の意義 黒住和彦、市川智継、小野成紀、石田穰治、大西 学、三好康之、伊達 勲
29. 第 41 回日本脳卒中の外科学会：STROKE2012：福岡，2012.04.26-28 脳幹部海綿状血管腫出血例における直達手術 9 例の検討 黒住和彦、小野成紀、市川智継、三好康之、石田穰治、春間 純、徳永浩司、伊達 勲
30. The 9th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology：Taipei, Taiwan, 2012.04.20-22 Multiple mechanisms of cilengitide treatment for malignant glioma Kurozumi K, Ichikawa T, Onishi M, Fujii K, Shimazu Y, Ishida J, Chiocca EA, Kaur B, Date I
31. 第 21 回脳神経外科手術と機器学会：大阪，2012.03.30 経蝶形骨洞手術におけるデュラシール™ プルースプレーの使用経験 黒住和彦、小野成紀、亀田雅博、伊達 勲
32. 第 22 回日本間脳下垂体腫瘍学会：東京，2012.02.25 小児間脳近傍腫瘍に対する神経内視鏡的アプローチの有用性 黒住和彦、小野成紀、市川智継、大西 学、島津洋介、石田穰治、伊達 勲
33. 第 72 回（社）日本脳神経外科学会中国四国支部学術集会：高知，2011.12.03 鞍上部胚細胞腫に対する集学的治療の成績 黒住和彦、市川智継、小野成紀、三好康之、伊達 勲
34. 第 29 回日本脳腫瘍学会学術集会：下呂，2011.11.27 悪性グリオーマにおける分子標的薬 cilengitide 感受性と血管新生関連因子の発現 黒住和彦、市川智継、大西 学、藤井謙太郎、島津洋介、石田穰治、大谷理浩、清水俊彦、柳井広之、古田知久、E. Antonio Chiocca、Balveen Kaur、伊達 勲
35. 第 18 回日本神経内視鏡学会：岡山，2011.11.17 成長ホルモン産生下垂体腺腫に対する神経内視鏡単独経鼻的摘出術と成長ホルモンの推移 黒住和彦、小野成紀、伊達 勲
36. （社）日本脳神経外科学会第 70 回学術

総会：横浜，2011.10.12 悪性グリオーマに対する分子標的薬 cilengitide 療法の現状と展望 黒住和彦、市川智継、大西 学、島津洋介、藤井謙太郎、石田穰治、大谷理浩、清水俊彦、柳井広之、古田知久、Balveen Kaur、Antonio Chiocca、伊達 勲

37. 第 16 回日本脳腫瘍の外科学会：横浜，2011.09.09 脳幹部海綿状血管腫に対する手術アプローチ 黒住和彦、市川智継、小野成紀、石田穰治、三好康之、徳永浩司、伊達 勲

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊達 勲 (DATE ISAO)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：70236785

(2) 研究分担者

黒住和彦 (KUROZUMI KAZUHIKO)
岡山大学・岡山大学病院・講師
研究者番号：20509608

(3) 連携研究者

杉生憲志 (SUGIU KENJI)
岡山大学・岡山大学病院・准教授
研究者番号：40325105

以上