

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592128

研究課題名(和文) Gliomaの新規予後因子CYR61及びMGMTに関する分子生物学的検討

研究課題名(英文) Evaluation of extracellular matrix protein CYR 61 & MGMT as a prognostic factor for glioma

研究代表者

杉生 憲志 (Sugiu, Kenji)

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40325105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：悪性グリオーマは手術療法、化学療法、放射線療法を併用しても予後は極めて不良である。インテグリンのリガンドであるCysteine-rich protein 61 (CYR61)は脳腫瘍の血管新生や増殖に関連しているとされる。今回我々はグリオーマ症例を対象にCYR61の発現解析を行い、CYR61とMGMTのbiomarkerとしての有用性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Recently, research efforts in identifying prognostic molecular biomarkers for malignant glioma have intensified. Cysteine-rich protein 61(CYR61) is one of the CCN family of matricellular proteins that promotes cell growth and angiogenesis in cancers through its interaction with several integrins. In this study, we investigated the relationships among CYR61, O6-methylguanine-DNA methyltransferase(MGMT) expression, the tumor removal rate and prognosis in 46 glioblastoma patients treated at the Okayama University Hospital. CYR61 expression was positive in 31(67%) of these patients. The median progression-free survival(PFS) and overall survival(OS) times of patients with strong CYR61 expression was significantly shorter than those of patients with weak CYR61 expression. In a multivariate Cox analysis, CYR61 proved to be an independent prognostic factor for patient survival. It was concluded that CYR61 might emerge as a significant prognostic factor regarding the prognosis of glioblastoma patients.

研究分野：医歯薬学、外科系臨床医学、脳神経外科学

キーワード：分子標的薬 バイオマーカー インテグリン グリオーマ cilengitide CYR61

1. 研究開始当初の背景

中枢神経腫瘍は原発性脳腫瘍と二次性脳腫瘍と分けられるが、悪性グリオーマは原発性脳腫瘍の中で、最も頻度の高い腫瘍である。手術療法、化学療法、放射線療法を併用しても、予後は極めて不良である。近年、悪性グリオーマに対する治療として、様々な新しい治療法が試みられているが、中でも、分子標的治療は近年注目を集めている。

インテグリン α 3, α 5の阻害薬であるcilengitideは抗腫瘍血管新生作用、抗腫瘍浸潤作用、及び抗腫瘍細胞効果が報告されており、海外において膠芽腫症例に対する多施設共同第2相および第3相試験が行われているところである。インテグリンのリガンドであるCYR61 (cysteine-rich protein 61)は脳腫瘍の血管新生や増殖に関連しているとされ、その発現上昇によりインテグリンとのautocrine loopが活性化するといわれている。今回我々は、CYR61の発現により、cilengitideに対するグリオーマの感受性が上昇するか否かを検証し、また、グリオーマ細胞、症例を対象にCYR61の発現解析を行い、CYR61のバイオマーカーとしての有用性について検討を行う。

応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯

応募者はオハイオ州立大学脳神経外科において、OVをより効果的な治療戦略とするため悪性グリオーマに対するオンコリティックヘルペスウイルス、または、アデノウイルスを用いた宿主の間葉系システムにおける反応、腫瘍のマイクロエンバイロメント、さらには、腫瘍血管の変化について調べてきた。我々はラット脳腫瘍モデルにおいてOV-HSV-1感染後に血管透過性の亢進を認め、その原因を探るべく、我々のラボではOV療法における腫瘍から分泌されるアンジオトームについての変化に関する研究を行ってきたところ、

cysteine-rich protein 61 (CYR61)の発現が有意に増加しているのを発見した。CYR61はグリオブラストーマの臨床検体においては68% (27/ 40)、また、グリオーマの細胞系列においても強発現している細胞外膜における分泌型ヘパリン結合蛋白である。この発現は乳癌患者やグリオーマ患者の予後における、陰性因子としてのマーカーと考えられている。

2. 研究の目的

研究目的1: ヒトグリオーマ細胞株とprimary human glioma-derived (PHGD) cellを用い、CYR61の発現の有無を調べる。

研究目的2: Cilengitide療法におけるCYR61の役割を調べる。仮説: 腫瘍マイクロエンバイロメントにおける分泌CYR61はCilengitide療法における治療反応性の指標となる。

研究目的3: グリオーマ症例を対象とし、組織標本を抗CYR61抗体にて免疫組織染色を行いcilengitide治療における予後予測因子としての可能性を探る。

3. 研究の方法

平成24年度の計画

1) CYR61プラスミド、shRNA、CYR61抗体、CYR61蛋白に関して本研究のセットアップを行う。

2) ヒトグリオーマ細胞株とprimary human glioma-derived (PHGD) cellを用い、QPCRでCYR61の発現の有無を調べる。

平成25年度の計画

1) In vitroにおいて、CYR61を遺伝子導入により強発現または抑制することで、または、分泌蛋白CYR61を用いることで、cilengitide投与時に、グリオーマ細胞株、PHGD cell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。

2) In vivoにおいて、CYR61を遺伝子導入により強発現または抑制させたグリオーマ細胞株、human glioma derived cellsを

用いた動物モデルに対しシレンジタイトを投与した時にどのような影響であるかについて検討する。

平成26年度の計画

- 1) グリオーマ症例を対象とし、組織標本を抗CYR61抗体にて免疫組織染色を行いバイオマーカーとしての可能性を探る。
- 2) 分泌蛋白CYR61と他の予後因子との関係（MGMTなど）との予後との関連性を調べる。
- 3) 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

平成 24 年度はグリオーマ細胞株を用いて、分泌蛋白 CYR61 の発現における cilengitide の反応性を調べた。

平成 25 年度は In vitro で、CYR61 を遺伝子導入により強発現または抑制することで、または、分泌蛋白 CYR61 を用いることで、cilengitide 投与時グリオーマ細胞株に対する影響を検討できた。

平成 26 年度はグリオーマ症例を対象とし、組織標本を抗 CYR61 抗体にて免疫組織染色を行いバイオマーカーとしての可能性を探ることができた。さらに、他の予後因子との関係（MGMT など）予後との関連性を調べた。統計学的データを解析し、学会発表を行った。現在論文投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

1. Nationwide survey of the nature and risk factors of complications in embolization of meningiomas and other intracranial tumors: Japanese Registry of NeuroEndovascular Therapy 2 (JR-NET2) Hishikawa T, Sugiu K, Hiramatsu M, Haruma J, Tokunaga K, Date I, Sakai N *Neuroradiology* 56: 139-144, 2014 doi: 10.1007/s00234-013-1300-4. 査読有
2. Combined transarterial and transvenous approach for curative obliteration of Klippel-Trenaunay-Weber

syndrome-associated spinal perimedullary arteriovenous fistulas Tokunaga K, Hishikawa T, Sugiu K, Date I *Clin Neuroradiol* : Jul 10. [Epub ahead of print], 2014 査読有

3. Long-term outcomes in adult patients with ischemic-type moyamoya disease involving posterior circulation Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Date I *Acta Neurochirurgica (Wien)* 156: 1745-1751, 2014 doi: 10.1007/s00701-014-2136-3. Epub 2014 May 28. 査読有
4. Cerebral vasospasm in patients over 80 years treated by coil embolization for ruptured cerebral aneurysms Hishikawa T, Takasugi Y, Shimizu T, Haruma J, Hiramatsu M, Tokunaga K, Sugiu K, Date I *BioMed Research International* 2014: 253867, 2014 *Biomed Res Int.* 2014;2014:253867. doi: 10.1155/2014/253867. Epub 2014 Mar 24. PMID:24783197 査読有
5. Clinical and radiographic features of moyamoya disease in patients with both cerebral ischaemia and haemorrhage Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Date I *Br J Neurosurg* 27: 198-201, 2013 査読有
6. The proposal of subgroups for grade V on World Federation of Neurologic Surgeons Grading for subarachnoid hemorrhage Nakagawa M, Sugiu K, Tokunaga K, Sakamoto C, Fujiwara K *Journal of Neurosurgical Sciences* 57: 303-306, 2013 査読有
7. Assessment of the difference in posterior circulation involvement between pediatric and adult patients with moyamoya disease Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Date I *Journal of Neurosurgery* 119: 961-965, 2013 査読有
8. Novel 3D-CT evaluation of carotid stent volume: greater chronological expansion of stents in patients with vulnerable plaques Itami H, Tokunaga K, Okuma Y, Hishikawa T, Sugiu K, Ida K, Date I *Neuroradiology* 55: 1153-1160, 2013 査読有
9. Mannitol enhances therapeutic effects of intra-arterial transplantation of mesenchymal stem cells into the brain after traumatic brain injury Okuma Y, Wang F, Toyoshima A, Kameda M, Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Liu K, Haruma J, Nishibori M, Yasuhara T, Date I. *Neurosci Lett* 554: 156-61, 2013 査読有
10. Assessment of the difference in

posterior circulation involvement between pediatric and adult patients with moyamoya disease Hishikawa T, Tokunaga K, Sugiu K, Date I Journal of Neurosurgery 119(4): 961-965, 2013 査読有

11. Onyx による術前塞栓術を併用した脳動脈奇形の外科的摘出術 徳永浩司、杉生憲志、菱川朋人、黒住和彦、大熊 佑、伊丹尚多、小野成紀、伊達 勲 脳卒中の外科 40: 217-222, 2012 査読有

〔学会発表〕(計 18 件)

1. 第 44 回日本脳卒中の外科学会学術集会: STROKE 2015, 広島, 2015.03.28 症候性海綿静脈洞部内頸動脈瘤に対する直達術とコイル塞栓術の比較検討, 菱川朋人、杉生憲志、徳永浩司、伊達 勲
2. 第 40 回日本脳卒中学会総会: STROKE 2015, 広島, 2015.03.27 腕頭動脈閉塞症に対する血管内治療, 西廣真吾、杉生憲志、菱川朋人、新治有径、高杉祐二、清水智久、春間 純、平松匡文、伊達 勲
3. 第 30 回 NPO 法人日本脳神経血管内治療学会学術総会, 横浜, 2014.12.06 脊髄硬膜動脈静脈瘤の治療時期と予後の相関, 新治有径、杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、春間 純、清水智久、高杉祐二、西廣真吾、伊達 勲,
4. 第 30 回 NPO 法人日本脳神経血管内治療学会学術総会, 横浜, 2014.12.04 硬膜動脈静脈瘤 (dAVF) に対する経動脈的塞栓術 (TAE) 液体塞栓物質の有用性と問題点 (シンポジウム), 杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、春間 純、清水智久、高杉祐二、新治有径、西廣真吾、伊達 勲
5. 第 26 回日本脳循環代謝学会総会, 岡山, 2014.11.22, 急性期脳梗塞に対する血管内再開通療法の現状 (シンポジウム), 杉生憲志、菱川朋人、平松匡文、春間 純、清水智久、高杉祐二、西廣真吾、新治有径、伊達 勲
6. 第 20 回日本血管内治療学会総会, 和歌山, 2014.06.21, 頭蓋内外シャント疾患における done-beam CT と 3D 回転 DSA の活用法 (シンポジウム), 平松匡文、杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、春間 純、清水智久、高杉祐二、新治有径、西廣真吾、伊達 勲
7. 第 23 回脳神経外科手術と機器学会, 福岡, 2014.04.18, Flat panel detector 装置で撮影した 3D 再構成画像による微細血管構造の可視化, 平松匡文、杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、春間 純、高杉祐二、清水智久、伊達 勲
8. 第 29 回 NPO 法人日本脳神経血管内治療学会学術集会: 新潟, 2013.11.22 複合テクニックを駆使した脳動脈瘤塞栓術の治療成績 菱川朋人、杉生憲志、徳永浩司、平松匡文、春間 純、高杉祐二、

清水智久、伊達 勲

9. (一社)日本脳神経外科学会第 72 回学術総会: 横浜, 2013.10.16 血栓化動脈瘤に対する血管内治療 (シンポジウム) 杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、平松匡文、春間 純、清水智久、高杉祐二、伊達 勲
10. XV WFNS World Congress of Neurosurgery (WFNS 2013): Seoul, Korea, 2013.09.10 Endovascular treatment for partially thrombosed aneurysms Sugiu K, Tokunaga K, Hishikawa T, Hiramatus M, Haruma J, Okuma Y, Shimizu T, Date I
11. XV WFNS World Congress of Neurosurgery (WFNS 2013): Seoul, Korea, 2013.09.09 Basic set-up for endovascular suite, from preparation to discharge (Breakfast Session) Sugiu K, Tokunaga K, Hishikawa T, Hiramatsu M, Haruma J, Shimizu T, Takasugi Y, Date I
12. 第 22 回中国四国脳神経血管内手術研究会: 岡山, 2013.09.07 高難度動脈瘤塞栓術における複合補助テクニック 春間 純、杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、平松匡文、清水智久、高杉祐二、西廣真吾、伊達 勲
13. 第 22 回中国四国脳神経血管内手術研究会: 岡山, 2013.09.07 新型 FPD 装置で安全に治療を施行し得た多発有窓形成を伴う前交通動脈瘤の 1 例 高杉祐二、杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、清水智久、春間 純、平松匡文、伊達 勲
14. 第 42 回日本脳卒中の外科学会: STROKE 2013: 東京, 2013.03.21 血管内治療による頭蓋内動脈解離に対する治療 適応と限界 (ビデオシンポジウム) 杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、平松匡文、大熊 佑、春間 純、清水智久、伊達 勲
15. Korean-Japanese Friendship Conference on Neuroendovascular Treatment: Sendai, Japan, 2012.11.16 Ischemic complication after "Y" configured dual stent-assisted coil embolization for basilar tip aneurysm Sugiu K, Tokunaga K, Hishikawa T, Ohkuma Y, Haruma J, Shimizu T, Date I
16. 第 28 回 NPO 法人日本脳神経血管内治療学会学術総会: 仙台, 2012.11.15 硬膜動脈静脈瘤に対する集学的治療 (特別シンポジウム) 杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、平松匡文、大熊 佑、春間 純、清水智久、伊達 勲
17. (社)日本脳神経外科学会第 71 回学術総会: 大阪, 2012.10.17 後頭蓋窩解離性動脈瘤に対する血管内治療 100 例の経験から 杉生憲志、徳永浩司、菱川朋人、平松匡文、大熊 佑、春間 純、清水智久、伊達 勲
18. ストロークフォーラム 2012 in 岡山: 岡山, 2012.09.28 脳梗塞外科治療の最新

線 杉生憲志

6. 研究組織

(1)研究代表者

杉生 憲志 (SUGIU, Kenji)

岡山大学・大学病院・准教授

研究者番号：40325105

(2)研究分担者

黒住 和彦 (KUROZUMI, Kazuhiko)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：20509608

(3)連携研究者

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

以上