

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04947

研究課題名（和文）神経血管ワイアリング分子を標的とした脳腫瘍の血管新生抑制療法

研究課題名（英文）Anti-angiogenic therapy for brain tumors targeting neuro-vascular wiring molecules

研究代表者

高野 晋吾（TAKANO, SHINGO）

筑波大学・附属病院・病院講師

研究者番号：50292553

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,800,000 円

研究成果の概要（和文）：神経膠腫における神経血管ワイアリングの異常を検出し、その異常を修復することで、神経膠腫の異常血管網を正常化する新概念の血管新生抑制療法の基盤を形成することを目的とした。神経血管ワイアリング分子のうち、Slit2が神経膠腫の血管新生、特にVEGF非依存性血管新生に促進的に作用することを、神経膠腫細胞と組織を用いて明らかにした。神経膠腫に対してLenalidomideはslit2 mRNA発現を抑制し、chetominは増殖を低酸素状態で強く抑制し、HIF-1 蛋白発現を抑制した。神経血管ワイアリング分子、Slit2の抑制に加えて、HIF-1 の抑制の併用による神経膠腫増殖抑制効果が期待される。

研究成果の概要（英文）：In order to make baseline of new anti-angiogenic therapy for glioblastoma, we focused on neurovascular wiring factors. Among neurovascular wiring factors, we found that slit2 expressed in glioblastoma associated with marked angiogenesis and promoted glioblastoma induced angiogenesis using glioblastoma tissues and cell lines. On therapeutic point, lenalidomide inhibited slit2 mRNA expression and chetomin inhibited cell growth under hypoxia and HIF-1 protein expression. Combined therapy with inhibitors of neurovascular wiring factor, slit2 and HIF-1 promise growth inhibition for glioblastoma.

研究分野：脳神経外科

キーワード：神経膠腫 神経血管ワイアリング 血管新生抑制療法 lenalidomide chetomin 低酸素誘導因子

#### 1. 研究開始当初の背景

血管豊富な神経膠腫に対する血管新生因子 ( VEGF: Vascular endothelial growth factor ) 中和抗体の大規模臨床試験から、VEGF 以外の血管新生も抑制する戦略が神経膠腫の増殖制御に必要であることが判明した。生体内では血管網と神経網が二大ネットワークとして機能する際、両者間に双方向の同様なシグナルが働いている(神経血管ワイヤリング)。神経膠腫の増殖は腫瘍細胞や腫瘍幹細胞が血管周囲に存在(血管ニッチェ)から始まり、グリア前駆細胞から発生する神経膠腫細胞と血管が作る異常な神経血管ワイヤリングと考えられる。

#### 2. 研究の目的

神経膠腫における神経血管ワイヤリングの異常を検出すること、およびこの異常な神経血管ワイヤリングを修復することにより、神経膠腫の異常血管網を正常化する新概念の血管新生抑制療法の基盤を形成する。

#### 3. 研究の方法

神経膠腫組織および細胞を用い、slit2 の神経膠腫への関与を、免疫染色、western 解析、RT-PCR 解析で評価した。

#### 4. 研究成果

- 神経血管ワイヤリング分子のうち、Slit2 が神経膠腫の血管新生、特に VEGF 非依存性血管新生に促進的に作用することを、神経膠腫細胞と組織を用いて明らかにした。
- 神経膠腫由来の Slit2 による血管新生作用は、Slit2 抗体および siRNA による slit2 ノックダウンで抑制され、Akt および MAPK シグナルの関与が示唆された。
- slit2 抑制剤の神経膠腫細胞に対する効果を評価した。低酸素領域に強く関係して、slit2 の発現にも密接な関係がある低酸素誘導因子 (HIF-1 ) の抑制にも注目した。Slit2 抑制剤として

lenalidomide、HIF-1 抑制剤として chetomin を用いて、以下が明らかにされた。1) 低酸素により slit2 発現の上昇は見られなかった。2) lenalidomide で slit2 mRNA 発現抑制がみられた。3) chetomin が増殖を抑制し、低酸素状態で抑制効果が強かった。4) chetomin で HIF-1 mRNA 発現は変化がないが、蛋白発現は抑制された。

- chetomin による U87 膠芽腫細胞の脳内移植モデルでの lenalidomide および chetomin の抗腫瘍効果を解析中である。
- 結語: 神経血管ワイヤリング分子、Slit2 の抑制に加えて、HIF-1 の抑制の併用による神経膠腫増殖抑制効果が期待される。

#### 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 17 件)

1. 高野晋吾. 膠芽腫に対する血管新生抑制療法の課題と対処: 血管 cooption と mimicry. Jpn J Neurosurg 2018 (in press). 査読有
2. Takuma Hara, Hiroyoshi Akutsu, Shingo Takano\*, Hiroyoshi Kino, Eiichi Ishikawa, Shuho Tanaka, Hidetaka Miyamoto, Noriaki Sakamoto, Keiichiro Hattori, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Shigeru Chiba, Takashi Hiyama, Tomohiko Masumoto, Akira Matsumura. Clinical and biological significance of adamantinomatous craniopharyngioma with CTNNB1 mutation. J Neurosurg 2018 (in press). \*corresponding author. 査読有
3. Dan Zhu, Satoru Osuka, Zhaobin Zhang, Zachery R. Reichert, Liquan Yang, Yonehiro Kanemura, Ying Jiang, Shuo You, Hanwen Zhang, Narra S. Devi, Debanjan Bhattacharya, Shingo Takano, G. Yancey Gillespie, Tobey Macdonald, Chalet Tan,

- Ryo Nishikawa, William G. Nelson, Jeffrey J. Olson, and Erwin G. Van Meir. BAI1 Suppresses Medulloblastoma Formation by Protecting p53 from Mdm2-mediated Degradation. *Cancer Cell* 2018 (in press) . 査読有
4. Matsuda M, Kohzuki H, Ishikawa E, Yamamoto T, Akutsu H, Takano S, Mizumoto M, Tsuboi K, Matsumura A. Prognostic analysis of patients who underwent gross total resection of newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Neurosci*. 50:172-176, 2018. doi: 10.1016/j.jocn.2018.01.009. 査読有
  5. Matsuda W, Sonomura T, Honma S, Ohno S, Goto T, Hirai S, Itoh M, Honda Y, Fujieda H, Udagawa J, Takano S, Fujiyama F, Ueda S. Anatomical variations of the torcular Herophili: macroscopic study and clinical aspects. *Anat Sci Int*. 2018 Mar 12. doi: 10.1007/s12565-018-0436-z. 査読有
  6. Takano S, Ishikawa E, Matsuda M, Sakamoto N, Akutsu H, Yamamoto T, Matsumura A: The antiangiogenic role of soluble-form VEGF receptor (sFlt1) in malignant gliomas. *Int J Oncol* 50: 515-524, 2017. doi: 10.3892/ijo.2016.3810. 査読有
  7. Nakao J, Ishikawa E, Matsuda M, Yamamoto T, Takano S, Matsumura A. Combination Therapy with Radiation, Temozolomide, and Bevacizumab after Partial Tumor Removal in Glioblastoma Patients with Low Performance Status. *Gan To Kagaku Ryoho*. 44(6):495-500, 2017. 査読有
  8. Matsuda M, Ishikawa E, Yamamoto T, Akutsu H, Takano S, Matsumura A. Efficacy of bevacizumab therapy in recurrent malignant gliomas in relation to the prior recurrence pattern or tumor location. *J Clin Neurosci*. 2017 40:115-119. doi: 10.1016/j.jocn.2017.02.025. 査読有
  9. Miyazaki T, Ishikawa E, Matsuda M, Akutsu H, Osuka S, Sakamoto N, Takano S, Yamamoto T, Tsuboi K, Matsumura A. Assessment of PD-1 positive cells on initial and secondary resected tumor specimens of newly diagnosed glioblastoma and its implications on patient outcome. *J Neurooncol*. 2017 133:277-285. doi: 10.1007/s11060-017-2451-7. 査読有
  10. Takano S, Hattori K, Ishikawa E, Narita Y, Iwadata Y, Yamaguchi F, Nagane M, Akimoto J, Oka H, Tanaka S, Sakata M, Matsuda M, Yamamoto T, Chiba S, Matsumura A. MyD88 mutation in the elderly predicts a poor prognosis in primary CNS lymphoma: multi-institutional analysis. *World Neurosurgery* 112:e69-e73, 2018. doi: 10.1016/j.wneu.2017.12.028. 査読有
  11. Shingo Takano Eiichi Ishikawa Noriaki Sakamoto Masahide Matsuda Hiroyoshi Akutsu Masayuki Noguchi Yukinari Kato Tetsuya Yamamoto Akira Matsumura Immunohistochemistry on IDH 1/2, ATRX, p53 and Ki-67 substitute molecular genetic testing and predict patient prognosis in grade III adult diffuse gliomas. *Brain Tumor Pathol* 33: 107-116, 2016. 査読有
  12. 高野晋吾、松田真秀、石川栄一、坂本規影、阿久津博義、木野弘善、山本哲哉、松村 明: グリオーマの免疫染色定量評価. *Neuro-Oncology の進歩* 23-1: 14-20, 2016. 査読有
  13. Takano S, Kato Y, Yamamoto T, Liu X, Ishikawa E, Kaneko MK, Ogasawara S, Matsuda M, Noguchi M, Matsumura A: Diagnostic advantage of double immunohistochemistry using two mutation-specific anti-IDH antibodies

(HMab-1 and MsMab-1) in gliomas. Brain Tumor Pathol 32: 169-175, 2015. DOI 10.1007/s10014-015-0214-8 査読有

14. Takano S, Yamamoto T, Ishikawa E, Akutsu H, Nakai K, Matsuda M, Muroi A, Shibata Y, Mizumoto M, Tsuboi K, Matsumura A: Improvement of long-term results with neoadjuvant chemotherapy and radiotherapy for central nervous system germinoma. World Neurosurg. 84: 846-854, 2015. doi: 10.1016/j.wneu.2015.06.029. 査読有
15. Takano S, Akutsu H, Mizumoto M, Yamamoto T, Tsuboi K, Matsumura A: Neuroendoscopy followed by radiotherapy in cystic craniopharyngiomas-a long-term follow-up. World Neurosurg. 84: 1305-1315, 2015. doi: 10.1016/j.wneu.2015.06.022. 査読有
16. Fujii Y, Ogasawara S, Oki H, Liu X, Kaneko MK, Takano S, Kato Y: A high-sensitive HMab-2 specifically detects IDH1-R132H, the most common IDH mutation in gliomas. Biochem Biophys Res Commun. 2015 Oct 30;466(4):733-9. 査読有
17. Shingo Takano, Tetsuya Yamamoto, Eiichi Ishikawa, Hiroyoshi, Akutsu, Kei Nakai, Masahide Matsuda, Ai Muroi, Yasushi Shibata, Masashi Mizumoto, Koji Tsuboi, Akira Matsumura. P-03 Improvement of Long Term Results With Adjuvant Chemoradiation Therapy for Central Nervous System Germinoma (p569). Abstracts From the 4th International CNS Germ Cell Tumor Symposium (Happo-en, Tokyo, Japan April 12-15, 2015). Pediatric Neurology 53: 551-578, 2015. 査読有

〔学会発表〕(計 20 件)

1. 高野晋吾、服部圭一郎、成田善孝、岩立康男、山口文雄、永根基雄、秋元治朗、

岡秀宏、田中聡、石川栄一、山本哲哉、坂田麻美子、千葉滋、松村明. 中枢神経原発リンパ腫の遺伝子変異と予後解析. 第 35 回日本脳腫瘍病理学会 (2017 年 5 月 19 日、栃木総合文化センター)

2. 高野晋吾, 石川 栄一, 松田 真秀, 益子良太, 阿久津 博義, 松村 明. 膠芽腫血管新生抑制の治療標的としての低酸素誘導性因子の重要性. 第 76 回脳神経外科学会総会 (2017.10.12、名古屋国際会議場)
3. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、阿久津博義、鶴淵隆夫、益子良太、松村 明：低酸素状態でのグリオーマ血管新生の問題点と対策. 第 35 回 日本脳腫瘍学会 (2017.11.26, 高松)
4. Takano S, Hattori K, Ishikawa E, Narita Y, Iwadata Y, Yamaguchi F, Nagane M, Akimoto J, Oka H, Tanaka S, Sakata M, Matsuda M, Yamamoto T, Chiba S, Matsumura A. MyD88 mutation in the elderly predicts a poor prognosis in primary CNS lymphoma: multi-institutional analysis. The 14th Asian Society for Neuro-Oncology Meeting (ASNO 2017) (2017.10.29, Osaka)
5. 高野晋吾：グリオーマリサーチスタジオ、グリオーマの血管新生と治療. 第 37 回脳神経外科コンgres (2017 年 5 月 11 日、パシフィコ横浜)
6. 高野晋吾、阿久津博義、原 拓真、木野弘善、山本哲哉、鴨田知博、松村 明: 巨大視床下部過誤腫の 1 例. 第 26 回間脳下垂体腫瘍学会 (2016.02.19, 福島県、福島市、クレイトン福島)
7. 高野晋吾、鶴田和太郎、松村 明: ジャーミノーマ化学放射線治療後の破裂脳動脈瘤の 1 例. 第 41 回日本脳卒中学会 (2016.04.14-16、札幌)
8. 高野晋吾、室井 愛、山本哲哉、阿久津博義、鴨田知博、松村 明：器質性中枢

- 性思春期早発症の診断・治療. 第 44 回小児神経外科学会 (2016.06.23、茨城県、つくば市、つくば国際会議場)
9. 高野晋吾、石川栄一、坂本規影、松田真秀、山本哲哉、松村 明: 神経血管ワイアリング分子 Slit2 のグリオーマ血管新生における役割. 第 34 回脳腫瘍病理学会 (2016.05.27、東京都、江東区、東京コンファレンスセンター・有明)
  10. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、上月暎浩、増田洋亮、津田恭二、山本哲哉、松村 明: グリオーマの血管新生と予後. 第 75 回脳神経外科学会総会 (2016.09.29、福岡県、福岡市、福岡国際会議場)
  11. 高野晋吾、藤田桂史、藤森広幸、丸島愛樹、益子良太、中尾隼三、山本哲哉、松村 明. 五苓散の血管新生抑制作用と慢性硬膜下血腫のアクアポリン発現. 第 25 回脳神経外科漢方医学会 (パネルディスカッション、2016.11.05、東京、千代田区、都市センターホテル)
  12. 高野晋吾、松田真秀、石川栄一、津田恭二、山本哲哉、松村 明: 中脳蓋グリオーマに対する内視鏡治療. 第 23 回神経内視鏡学会 (2016.11.17、東京、文京区、東京ドームホテル)
  13. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、坂本規影、上月暎浩、山本哲哉、松村 明: 神経血管ワイアリング分子 Slit2 のグリオーマ血管新生における役割. 第 34 回脳腫瘍学会 (2016.12.04、山梨県、甲府市、甲府富士屋ホテル)
  14. 高野晋吾、山本哲哉、石川栄一、坂本則影、松田真秀、中井 啓、阿久津博義、加藤幸成、松村 明: 分子診断による grade III グリオーマの予後解析. 第 33 回日本脳腫瘍病理学会 (シンポジウム、2015 年 5 月 29 日、高松)
  15. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、加藤幸成、山本哲哉、松村 明: 悪性神経膠腫におけるポドブラニン発現・IDH 変異・Akt シグナルによる予後解析. 第 16 回分子脳神経外科学会 (2015 年 8 月 29 日、浜松)
  16. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、金子美華、加藤幸成: Podoplanin expression combined with IDH mutation as a prognostic factor with high grade gliomas. 第 74 回日本癌学会総会 (2015 年 10 月 8 日、名古屋)
  17. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、中井 啓、阿久津博義、山本哲哉、加藤幸成、松村 明: 血管内皮増殖因子 (VEGF) / 低酸素誘導因子 (HIF1) 発現は IDH 変異とは独立したグリオーマの予後因子である. 第 74 回日本脳神経外科学会総会 (2015 年 10 月 14 日、札幌)
  18. Muragaki Y, Narita Y, Kumabe T, Takano S et al.: Multicenter retrospective study to compare chemoradiotherapy with Temozolomide or ACNU for 535 anaplastic gliomas. 20<sup>th</sup> annual meeting of American Society of Neuro-oncology (2015.11.19, Texas)
  19. 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、加藤幸成、山本哲哉、松村 明: 悪性神経膠腫におけるポドブラニン発現・IDH 変異・Akt シグナルによる予後解析. 第 33 回脳腫瘍学会 (2015 年 12 月 6 日 京都)
  20. 高野晋吾: 悪性神経膠腫に対するベバシズマブ: 基礎研究から臨床試験. 第 74 回日本脳神経外科学会総会、ランチョンセミナー (2015 年 10 月 15 日、札幌) (図書) (計 4 件)
    1. 高野晋吾. Endoscopic transventricular surgery. 頭蓋咽頭腫パーフェクトブック 編集 井川房夫・川俣貴一・西岡宏、中外医薬社 p105-112, 2016
    2. 高野晋吾. 基礎研究と臨床試験からみた悪性グリオーマにおけるベバシズマブ.

癌と化学療法 Current Organ Topics: 脳  
腫瘍 グリオーマ Jpn J Cancer  
Chemother 43 (6): 694-701, 2016.

3. 高野晋吾. 退形成性星細胞腫. 脳腫瘍学  
-基礎研究と臨床研究の進歩- 日本臨床  
74: suppl 7, 377-386, 2016.
4. 高野晋吾. 傍鞍部腫瘍の病理と分類. 下  
垂体疾患診療マニュアル 改訂第2版,  
編集 平田結喜緒, 山田正三, 成瀬光栄,  
診断と治療社, p70-76, 2016.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

高野晋吾 (TAKANO, Shingo)  
筑波大学附属病院・病院講師  
研究者番号 : 50292553

### (2)研究分担者

久保田義顕 (KUBOTA, Y0shinori)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号 : 50348687

山下年晴 (YAMASHITA, Toshiharu)  
筑波大学医学医療系・助教  
研究者番号 : 50400677

依馬正次 (EMA, Masatsugu)  
滋賀医科大学・動物生命科学研究センタ  
ー・教授  
研究者番号 : 60359678

加藤幸成 (KATO, Yukinari)  
東北大学・医学系研究科・教授  
研究者番号 : 00571811

松田和郎 (MATSUDA Wakoto)  
獨協医科大学・医学部・准教授  
研究者番号 : 80444446