

研究報告書
令和4年度：A課題

2024年 4月 10日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 島根大学 医学部医学科 発生生物学

住 所 〒693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1

研究者氏名 藤田 幸

(研究課題)

グリオーマの悪性化に関わるクロマチンの立体構造解明とその制御手法の開発

令和5年 3月 31 日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しました
のでご報告いたします。

【 研究背景 ・ 目的 】

神経膠腫（グリオーマ）は脳や脊髄に発生する腫瘍で、人口 10 万人に対し 1 年間に 12 人程度発生するといわれる脳腫瘍全体の約 30%を占める、比較的頻度の高い腫瘍である。運動麻痺、手足のしびれ、言語障害など脳の局所の機能障害や、頭痛、てんかん発作や意識障害などの症状から発見に至ることがあるが、症状の出現時には、腫瘍はある程度の大きさに成長している。また、神経膠腫には、比較的予後の良好な神経膠腫から、予後不良な神経膠芽腫（グリオブラストーマ）まで様々な病気が含まれる。悪性神経膠腫は治療に抵抗性で、平均余命約 21 ヶ月と極めて予後不良である。中でも最も頻度が高く、最も悪性度が高い WHO GradeIVの膠芽腫は、標準的な治療である摘出術、及び術後放射線化学療法を行っても全生存期間中央値が 14.6 か月と非常に短く、あらゆる癌の中で最も予後不良ながんである。神経膠腫は全体として 30~60 歳台という労働人口に多く発生、早期より麻痺や高次脳機能障害などの重大な症状を起こすため、新たな治療開発は緊急の課題である。そこで本研究では、グリオーマの悪性化の分子メカニズムについて、検証を進めた。

【 実験方法 ・ 結果 】

グリオーマ病変組織では、様々な遺伝子発現変化が報告されており、その全てを標的とした分子標的治療薬の開発は極めて困難である。エピゲノム治療薬は複数の経路を同時に制御できる可能性があり、その治療効果に期待が高まっている。そこで本研究では、ヒストンを脱アセチル化を制御する酵素として、Histone deacetylase (HDAC)の発現と、HDAC 阻害剤による、神経幹細胞の増殖への影響について検証した。

神経幹細胞／神経前駆体細胞における HDAC の発現解析

Nestin は一過性に発現する中間径フィラメントであり、中枢神経系において神経幹細胞／神経前駆体細胞 (NSCs/NPCs)に発現する。NSC は成体にも存在し、神経新生は少なくとも齧歯類において、成体でも生じている。哺乳類の成体脳では、NSCs/NPCs は主に限られた場所に存在する。最も重要な領域のひとつが SVZ である。SVZ では、神経幹細胞 (B 細胞) が中間神経前駆細胞である一過性増幅細胞 (C 細胞) を産生する。これらの一過性増幅細胞は短い細胞周期で分裂を繰り返す、多数の未成熟ニューロンを産生する。未熟なニューロン (A 細胞) はアストロサイト内の吻側移動流を通り、嗅球に移動して分化・成熟する。分化の各段階は、遺伝子発現の変化によって制御されている。この細胞マーカーを用いて、神経幹細胞における HDAC の発現を検討した。免疫組織染色を行った結果、HDAC は Nestin 陽性細胞に発現していることが確認された。

HDAC 阻害剤による増殖抑制効果

成体マウス側脳室付近の脳室下帯より神経幹細胞を回収、培養し、HDAC 阻害剤による神経幹細胞増殖への影響を検証した。HDAC の SVZ 神経幹細胞の増殖に及ぼす影響を *in vitro* で検討するため、HDAC の阻害剤存在下、非存在下で、SVZ 神経幹細胞からニューロスフェアを作製し、その直径を計測した。24 時間ごとの細胞数を確認した結果、HDAC 阻害剤の存在下では、48 時間後から細胞数の増加が緩やかになった。この結果より、阻害剤処理を 48 時間に固定してニューロスフェアの大きさを検討した。HDAC 阻害剤で 48 時間処理を行った細胞を 7 日間培養し、コントロール群と阻害剤処理を行った細胞でニューロスフェアの大きさを比較した。その結果、PCI-34051 存在下ではニューロスフェアの直径が小さく計測された。この結果より、HDAC 阻害は SVZ 神経幹細胞の増殖を抑制することが示唆された。

【 考察 ・ 展望 】

近年、本疾患に対する次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析が進み、様々な遺伝子変化が発見されるようになった。それらが腫瘍の生物学的特性だけでなく、治療への反応性や予後などの臨床面に關わる情報も明らかとなった。さらに、DNA 塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現あるいは細胞表現型の変化といったエピゲノム変化についても研究が進み、神経膠腫においても DNA メチル化、ヒストン修飾異常などのエピゲノム修飾が遺伝子発現の調整に大きく関わっていることもわかってきた。ヒストン修飾の一つであるアセチル化修飾は、クロマチン構造を緩め、転写因子などが DNA へ結合しやすい状況をひき起こすため、一般的に転写が活性化するという役割が知られている。ヒストンを脱アセチル化を制御する酵素として、HDAC が良く知られており、遺伝子発現制御に關与している。神経膠腫において重要と考えられている遺伝子群、ならびにそれら遺伝子の発現制御に關わるエピゲノム修飾、さらには腫瘍幹細胞に關わる遺伝子群の機能解析を継続し、分子メカニズムの詳細を明らかにすることで、新たな治療法の糸口が見つかること期待される。

【 謝辞 】

本研究は、公益財団法人がん研究振興財団からの多大なるご支援により、大きく推進させることができました。この場をおかりして深くお礼申し上げます。