

受賞対象論文

Otani Y, Ichikawa T, Kurozumi K, Inoue S, Ishida J, Oka T, Shimizu T, Tomita Y, Hattori Y, Uneda A, Matsumoto Y, Michiue H, Date I : Fibroblast growth factor 13 regulates glioma cell invasion and is important for bevacizumab-induced glioma invasion. *Oncogene* (2018) 37, 777-786.

大谷 理 浩

Yoshihiro Otani

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科学

Department of Neurological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences



<プロフィール>

昭和59年生まれ

平成21年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成21年4月 岡山市立市民病院 初期研修医

平成23年4月 岡山大学病院 脳神経外科 医員レジデント

平成24年4月 岡山市立市民病院 脳神経外科 後期研修医

平成26年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科学 研究員

平成29年6月 University of Texas Health Science Center at Houston 博士研究員
現在に至る

研究の背景と経緯

グリオーマは原発性脳腫瘍の中でも最も予後不良な疾患の1つであり、とくに WHO 分類 grade IVである膠芽腫 (glioblastoma, GBM) は外科的摘出、放射線化学療法を行っても生存期間中央値は14.6ヵ月と極めて予後が悪い。GBM の治療抵抗性の要因としては、高い血管新生能や分裂能、浸潤能などの組織学的要因¹⁾、および個々の腫瘍細胞における heterogeneity 等の分子生物学的要因²⁾ が知られている。血管新生に関しては腫瘍細胞などから放出される vascular endothelial growth factor (VEGF) 等が関与しており、それに対する分子標的薬 (bevacizumab) も国内外で臨床使用されているが、予後の延長は得られていない^{3,4)}。また、bevacizumab 投与によりグリオーマの浸潤能が亢進するという報告もある⁵⁾。浸潤能に関しては、細胞骨格等の腫瘍細胞自体を制御する機構、細胞外マトリクスなどの周辺環境を制御する機構などが報告されているが、十分には解明されていない。

我々は、これまで2種類の異なる浸潤様式を呈する浸潤性グリオーマ細胞 (J3T-1, J3T-2) を使用し、浸潤関連遺伝子の探索を行ってきた⁶⁻⁸⁾。今回、網羅的解析を行い、新たに同定した fibroblast growth factor13 (FGF13) について検討を行った。

研究成果の内容

血管新生に沿った浸潤様式を呈する J3T-1、びまん性の浸潤様式を呈する J3T-2を用いてマイクロアレイの比較解析を行い、J3T-2で発現上昇している FGF13を同定した。FGF13は、ヒト正常アストロサイトと比較し、グリオーマ細胞株 (U87 ΔEGFR 細胞, U251細胞, LNZ308細胞)、グリオーマ幹細胞 (MGG8細胞, MGG23細胞)、ヒトグリオーマ組織で発現上昇し、ヒトグリオーマ組織内では主に浸潤境界に発現していた。Western blotting では細胞質に局在する FGF13Bの発現が高く、免疫染色では細胞骨格であるチューブリンとの共局在が確認された。

In vitro において、RNAi を用いて FGF13を発現抑制したグリオーマ細胞株を作成した結果、浸潤能の低下を認めた。一方、water-soluble tetrazolium-1 (WST-1) assay では、FGF13抑制による増殖能の変化は観察されなかった。

次に、in vivo において、FGF13を発現抑制した J3T-2細胞, MGG8細胞, MGG23細胞をマウス脳内へ移植し、組織学的変化および生存期間を観察した。FGF13発現抑制群において浸潤能の低下が認められたが、血管新生能や細胞分裂能の変化は認められなかった。いずれのグリオーマモデルにおいても、FGF13発現抑制群で担脳腫瘍マウス生存期間の延長が認められた。

Perivascular invasion

(J3T-1)

Annexin A2高発現

Diffuse invasion

(J3T-2)

FGF13高発現

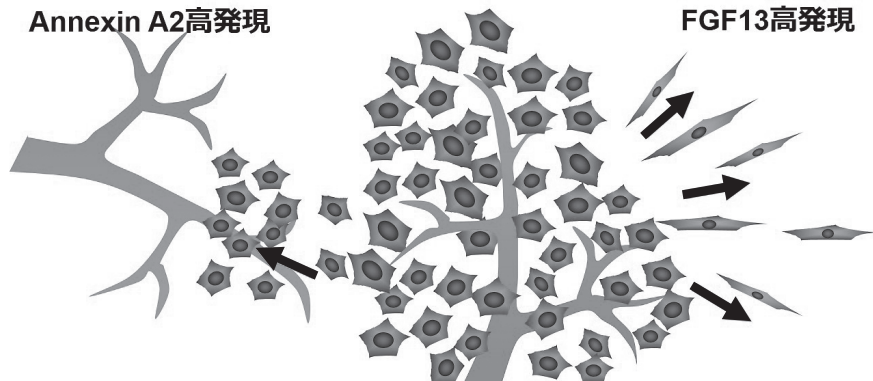


図 J3T モデルの浸潤様式と遺伝子発現
血管新生を誘導し、それを中心とした浸潤を呈する J3T-1細胞では annexin A2 が発現上昇している。一方、びまん性浸潤を呈する J3T-2細胞では FGF13が発現上昇している。

グリオーマ細胞をチューブリン阻害薬で処理すると安定化チューブリンの発現が低下したが、FGF13を過剰発現した細胞では安定化チューブリンの発現低下は抑制され、FGF13は細胞骨格であるチューブリンを制御している可能性が示唆された。

U87ΔEGFR 細胞をマウス脳内へ移植し bevacizumab で治療を行うと腫瘍境界部分において浸潤を誘導することが出来る⁵⁾。一方、FGF13を発現抑制した U87ΔEGFR 細胞をマウス脳内へ移植し bevacizumab で治療を行った場合、浸潤誘導を抑制することが出来た。

研究成果の意義および今後の展望

FGF13は一般的な FGF と異なり非分泌型の FGF に分類され、FGF13A は核に、FGF13B は細胞質に局在し、FGF13B がチューブリンを制御することで神経細胞の移動に関与することが知られている⁹⁾。一方、腫瘍では子宮頸癌や前立腺癌において予後に相関することが報告されているが、その機序に関しては解明されていない。また、グリオーマにおける報告はほとんどないが、今回の研究では FGF13がグリオーマの浸潤に関与していることを証明した。近年、グリオーマ浸潤における細胞骨格の重要性が注目され、チューブリンを標的とした治療の有用性も報告されており、今後は FGF13と細胞骨格の関連を更に検討していく予定である。

文 献

1) Ichikawa T, Otani Y, Kurozumi K, Date I : Phenotypic

Transition as a Survival Strategy of Glioma. Neurol Med Chir (Tokyo) (2016) 56, 387-395.

- 2) Patel AP, Tirosh I, Trombetta JJ, Shalek AK, Gillespie SM, et al. : Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. Science (2014) 344, 1396-1401.
- 3) Chinot OL, Wick W, Mason W, Henriksson R, Saran F, et al. : Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. N Engl J Med (2014) 370, 709-722.
- 4) Gilbert MR, Dignam JJ, Armstrong TS, Wefel JS, Blumenthal DT, et al. : A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. N Engl J Med (2014) 370, 699-708.
- 5) Ishida J, Onishi M, Kurozumi K, Ichikawa T, Fujii K, et al. : Integrin inhibitor suppresses bevacizumab-induced glioma invasion. Transl Oncol (2014) 7, 292-302. e291.
- 6) Inoue S, Ichikawa T, Kurozumi K, Maruo T, Onishi M, et al. : Novel animal glioma models that separately exhibit two different invasive and angiogenic phenotypes of human glioblastomas. World Neurosurg (2012) 78, 670-682.
- 7) Maruo T, Ichikawa T, Kanzaki H, Inoue S, Kurozumi K, et al. : Proteomics-based analysis of invasion-related proteins in malignant gliomas. Neuropathology (2013) 33, 264-275.
- 8) Onishi M, Ichikawa T, Kurozumi K, Inoue S, Maruo T, et al. : Annexin A2 regulates angiogenesis and invasion phenotypes of malignant glioma. Brain Tumor Pathol (2015) 32, 184-194.
- 9) Wu QF, Yang L, Li S, Wang Q, Yuan XB, et al. : Fibroblast growth factor 13 is a microtubule-stabilizing protein regulating neuronal polarization and migration. Cell (2012) 149, 1549-1564.

平成30年 9 月 2 日受稿

〒700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1

電話 : 086-235-7336 FAX : 086-227-0191

E-mail : yoshihiro00tani@gmail.com