

受賞対象論文

Matsumoto Y, Ichikawa T, Kurozumi K, Otani Y, Fujimura A, Fujii K, Tomita Y, Hattori Y, Uneda A, Tsuboi N, Kaneda K, Makino K, Date I: Annexin A2-STAT3-Oncostatin M receptor axis drives phenotypic and mesenchymal changes in glioblastoma. *Acta Neuropathol Commun* (2020) 8, 42.

ハイライト

- ・ 膠芽腫において、annexin A2 (ANXA2) は STAT3 を介して oncostatin M receptor (OSMR) の発現を制御した。
- ・ ANXA2-STAT3-OSMR axis は膠芽腫の組織学的・分子生物学的悪性化を誘導した。
- ・ ANXA2-STAT3-OSMR axis は膠芽腫の新たな治療標的となり得る。

松本 悠司

Yuji Matsumoto



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>

2012月3月 岡山大学医学部医学科卒業
 2012年4月 岡山赤十字病院 初期研修医
 2015年4月 岡山大学病院 脳神経外科 医員レジデント
 2016年4月 岡山赤十字病院 脳神経外科 後期研修医
 2017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
 2020年4月 米国国立衛生研究所 国立がん研究所 客員研究員
 2020年9月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了
 2020年12月 岡山医療センター 脳神経外科
 現在に至る

研究の背景と経緯

神経膠腫は最も予後不良な原発性脳腫瘍の一つである。特に、神経膠腫の中で最も悪性度の高い膠芽腫は外科的摘出や放射線化学療法といった集学的治療を行っても生存期間中央値は約15~20ヶ月と極めて予後不良である。膠芽腫の治療抵抗性の原因の一つとして、組織学的・分子生物学的多様性とそれらの表現型のシフトが挙げられる。膠芽腫は組織学的に高い増殖能、血管新生能、浸潤能を呈し、腫瘍の増大や治療経過と共にその組織学的表現型を変化させることが知られている¹⁾。また、近年になり遺伝子発現解析により膠芽腫は3つのサブタイプに分けられることが提唱された²⁾。これらの中でmesenchymal サブタイプは最も予後不良なサブタイプとされ、他のサブタイプからmesenchymal サブタイプへのシフトが起こることにより治療抵抗性が惹起されることが報告されている³⁾。

当科ではこれまで異なる浸潤様式を呈する神経膠腫細胞 (J3T-1, J3T-2) を使用し、組織学的表現型シフトについて研究を行ってきた。J3T-1 は血管新生に沿った浸潤を示し、一方、J3T-2 はびまん性浸潤を示す⁴⁾。

J3T-1 に Annexin A2 (ANXA2) をノックダウンした J3T-1shA は血管新生能を失いびまん性浸潤へと表現型が変化し、一方、J3T-2 に ANXA2 を過剰発現させた J3T-2A では血管新生能を獲得し血管新生に沿った浸潤様式に表現型が変化することを示し、ANXA2 は血管周囲浸潤を誘導し表現型を規定する遺伝子であることを報告した⁵⁾。しかし、ANXA2 がどのような機序で膠芽腫の組織学的表現型を規定するか、また分子生物学的表現型にどのような影響を与えるかは知られていない。本研究では ANXA2 とともに発現が変化する遺伝子の解析を行い、ANXA2 が膠芽腫の組織学的・分子生物学的表現型シフトを制御する機序について検討した。

研究成果の内容

J3T-1, J3T-1shA, J3T-2, J3T-2A を用いてマイクロアレイの比較解析を行い、ANXA2 と連動して発現が変化する15個の遺伝子を抽出した。これらの15個の遺伝子について The Ivy Genome Atlas Project と The Cancer Genome Atlas (TCGA) のデータを用い

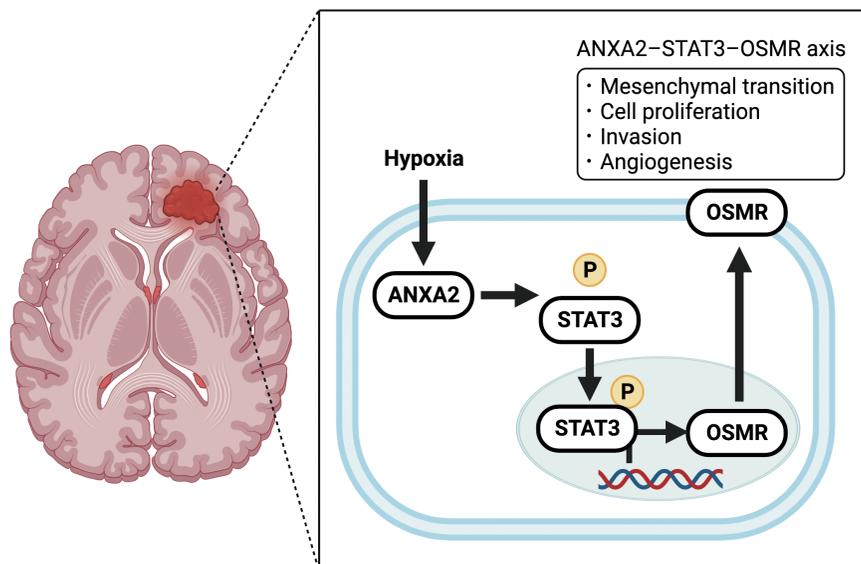
て腫瘍の部位別および膠芽腫のサブタイプ別の遺伝子発現について階層的クラスタリングを行うと、いずれも Oncostatin M receptor (OSMR) が ANXA2 と最も近いクラスタに分類され、腫瘍コア部と Mesenchymal サブタイプで高い発現を示した。次に、TCGA と The Repository of Molecular Brain Neoplasia Data (REMBRANDT) のデータセットおよび当科で手術を行った膠芽腫40例を用いて ANXA2 と OSMR の mRNA の発現の相関を評価すると、いずれも正の相関を示した。

In vitro において、ヒト膠芽腫幹細胞株である MGG23 に ANXA2 を過剰発現させるとウェスタンブロットティングで OSMR の発現上昇を認めた。次に、MGG23 を用いて Mesenchymal サブタイプに特徴的とされる遺伝子の発現と増殖能、浸潤能、血管新生能についてそれぞれ qRT-PCR, water-soluble tetrazolium-1C assay, Matrigel invasion assay, tube formation assay で評価した。MGG23 に ANXA2 を過剰発現させるとコントロール群に比べて Mesenchymal マーカー遺伝子の発現の上昇および増殖能、浸潤能、血管新生能の亢進を認めたが、この細胞に OSMR のノックダウンを行うとそれらは低下した。ANXA2 が OSMR の発現を制御する機序について STAT3 に着目したところ、MGG23 に ANXA2 を過剰発現させるとウェスタンブロットティングで OSMR の発現上昇とともに STAT3

のリン酸化亢進を認めた。さらにこの細胞に OSMR のノックダウンを行うと OSMR の発現は低下した。加えて、MGG23 を低酸素条件下で培養するとウェスタンブロットティングで ANXA2 と OSMR の発現上昇および STAT3 のリン酸化亢進を認め、STAT3 をノックダウンして低酸素条件下で培養すると OSMR の発現は低下した。

次に、*in vivo* において、ANXA2 を過剰発現させた MGG23 をマウス脳内に移植し観察すると、コントロール群に比べて CD31 陽性血管密度、増殖能を示す Mib-1C index、対側大脳半球への腫瘍細胞浸潤数が増加し、生存期間が有意に短縮した。ANXA2 を過剰発現させた MGG23 に OSMR のノックダウンを行いマウス脳内に移植すると、ANXA2 により誘導された CD31 陽性血管密度、Mib-1 index、対側大脳半球への腫瘍細胞浸潤数は低下し生存期間は有意に延長した。

最後に、ヒト手術検体を用いた臨床的解析を行った。REMBRANDT のデータを用いて解析したところ、神経膠腫において ANXA2 と OSMR それぞれの高発現群で有意に全生存期間が短縮していた。さらに当科での膠芽腫手術検体40例について免疫染色を行うと、ANXA2 高発現群で OSMR の発現は有意に亢進しており、MIB-1 index、CD31 陽性血管数も ANXA2 低発現群と比べて有意な上昇を認めた。以上の結果から、ANXA2 は STAT3 のリン酸化を介して OSMR の発



図Q ANXA2-STAT3-OSMR axis の概略図
膠芽腫において、ANXA2-STAT3-OSMR axis は Mesenchymal サブタイプへの表現型シフトおよび増殖能、浸潤能、血管新生能を制御する。

現を制御しており、このANXA2-STAT3-OSMR axisは膠芽腫のmesenchymal サブタイプへの表現型シフトおよび増殖能、浸潤能、血管新生能を制御し、予後不良因子であると考えられた (図1)。

研究成果の意義と今後の展望

本研究結果により、ANXA2-STAT3-OSMR axisの活性化は膠芽腫の組織学的悪性化を惹起し、膠芽腫の中でもより治療抵抗性なmesenchymal サブタイプへ分子生物学的表現型を変化させると考えられ、新たな治療標的となる可能性がある。OSMRのリガンドであるOSMについて、米国で全身性強皮症を対象に抗OSM抗体 GSK2330811による第II相臨床試験(NCT03041025)が行われている。OSMやOSMRを阻害することでANXA2-STAT3-OSMR axisの働きを阻害し、膠芽腫に対して抗腫瘍効果を発揮する可能性があり、膠芽腫の治療薬開発を今後検討していく。

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 Wang Q, Hu B, Hu X, Kim H, Squatrito M, et al.: Tumor Evolution of Glioma-Intrinsic Gene Expression Subtypes Associates with Immunological Changes in the Microenvironment. *Cancer Cell* (2018) 33, 152.
- 3 Bhat KPL, Balasubramaniyan V, Vaillant B, Ezhilarasan R, Hummelink K, et al.: Mesenchymal differentiation mediated by CNF-kappaB promotes radiation resistance in glioblastoma. *Cancer Cell* (2013) 24, 331-346.
- 4 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.
- 5 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.

2021年12月21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：y.matsumoto0715@gmail.com