

グラントNo. : L S I 2 4 1 0 3

ライフサイエンスイノベーションセンター
令和6年度「学内共同研究等研究費助成」

膠芽腫におけるケラタン硫酸の臨床病理学的研究

研究代表者：菊田健一郎（医学系部門・脳神経外科・教授）

共同研究者：小林基弘（医学系部門・腫瘍病理学・教授）、大岩美都妃（医学系部門・脳神経外科・医員）

概要	
膠芽腫は高い浸潤能、増殖能、多分化能をもつ予後不良な脳腫瘍である。膠芽腫細胞と硫酸化糖鎖の関連は報告されているが、特に硫酸化糖鎖の中でもケラタン硫酸の関与を証明した研究は少ない。その理由として、ケラタン硫酸はその構造にバリエーションをもつ硫酸化糖鎖であり、現時点ではその構造すべてを網羅する抗体は存在しないことがあげられる。我々は既存の抗ケラタン硫酸抗体と、新規に作製した抗ケラタン硫酸抗体を用いて、膠芽腫の臨床病理検体でのケラタン硫酸の発現を解析する。	
関連キーワード	膠芽腫、硫酸化糖鎖、ケラタン硫酸

研究の背景および目的

くも膜下出血後の脳血管攣縮の新たな発生機序として、老化した赤血球その他の糖鎖がリガンドとなり、マクロファージおよび血管内皮上の C タイプレクチン受容体 LOX-1 に結合して始まる炎症と仮定し、新たな発症機序を解明する本研究においては、炎症と糖鎖の関連が主のテーマである。まず我々は先行研究として、膠芽腫と糖鎖の関係について一定の成果を得られたため、今回の研究成果報告書では膠芽腫と糖鎖、特にケラタン硫酸について報告する。

膠芽腫は脳腫瘍の中でも予後が悪い腫瘍と知られており、5 年生存率は 16%，平均生存期間は 1 年半である。現代の医療技術の向上をもってしても著明な予後の改善は得られていない。膠芽腫は浸潤能、増殖能、多分化能が高く手術での全摘出が困難であること、放射線と化学療法による後療法を行っても再発が避けられないことが原因として挙げられる。膠芽腫の浸潤能、増殖能、多分化能に関する動態を解明することが急務である。

多臓器とは異なり、脳にはコラーゲンがほとんど存在せず、細胞外基質にはプロテオグリカンと糖タンパク質が多く含まれている。プロテオグリカンの構成要素である硫酸化糖鎖には、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸に加えてケラタン硫酸も多く含まれている。膠芽腫とヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸の関連はいくつか報告されてお

り、ケラタン硫酸についても悪性度の高い神経膠腫での増加が報告されている。この報告は細胞株や組織マイクロアレイを用いた実験から得られた結果である。本研究では手術検体を用いた臨床病理学的検討であり、より実臨床に基づいたものである。

ケラタン硫酸は 2 糖の繰り返し構造であり、そこに硫酸基がついたものである。繰り返しの長さや硫酸基の有無にてバリエーションが非常に多く、これが解析を困難とする一因である。研究分担者の小林らは、既存の抗ケラタン硫酸抗体に加えて新規に作成した抗ケラタン硫酸抗体を用いて、卵巣癌や精巣胎児性癌などの腫瘍組織におけるケラタン硫酸の発現を報告している。

腫瘍の浸潤、増殖、分化については腫瘍そのものの動態だけでなく、腫瘍微小環境と言われる腫瘍を取り巻く環境も関与していると言われている。脳に豊富に含まれる細胞外基質であるケラタン硫酸も膠芽腫の浸潤、増殖、分化になんらかの形で関与していると思われる。我々は、より実臨床に基づいた方法で、膠芽腫におけるケラタン硫酸の発現動態について解析する。

研究の内容および成果

過去の神経膠腫症例の手術検体 185 例を解析した。当時作成された HE 染色の手術検体スライドを顕微鏡下にて観察したのちに、パラフィン固定されている手術検体を切り出し、免疫染色を用いて IDH 遺伝子変異の有無を調べた。IDH 変異なし、かつ病理学的に膠芽腫の特徴について顕微鏡下に確認したのちに膠芽腫グループ 80 例とした。IDH 変異あり、かつ病理学的特徴を顕微鏡下にて確認し非膠芽腫グループ 83 例とした。これらの 2 グループの症例を抗ケラタン硫酸抗体を用いて免疫染色を行った。これらを顕微鏡下にて観察し、免疫染色の強度と染色範囲を Allred score を参照にスコアリングを行った。

スコアリング結果を PS (Proportion score : 免疫染色での陽性となった面積のスコア) , IS (Intensity score : 免疫染色の染色強度) , PS と IS を合計したスコアにてそれぞれ統計学的に解析した (Figure. 1)。

Fig. 1 : PS と PS の合計スコア (All) を比較。膠芽腫グループにおいて、非膠芽腫グループと比較して有意なスコアの上昇がある。 (p<0.05)

これらの結果は中等度の長さの高硫酸化されたケラタン硫酸を検出する抗ケラタン硫酸抗体を用いた結果である。他の抗ケラタン硫酸抗体を用いて免疫染色を行い、同様に PS, IS のスコアリングを実施し統計解析を行った。これらの結果を踏まえると、膠芽腫グループでは高硫酸化ケラタン硫酸の発現が増加していることがわかった。これらは臨床病理学的に悪性度が高い所見でなくとも発現が増加しており、膠芽腫が有する浸潤能に関連している可能性がある。一方で非膠芽腫グループにおいては、臨床病理学的に悪性度が高い所見を呈していても、高硫酸化ケラタン硫酸の有意な発現上昇はみられなかった (Fig. 2)。

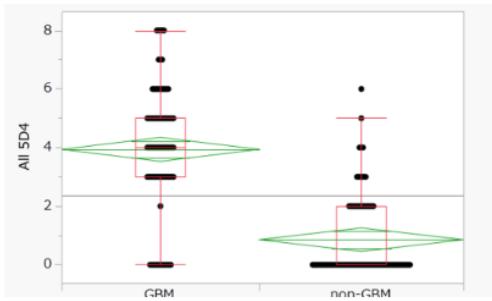


Fig.1: PSとPSの合計スコア (All) を比較。膠芽腫グループにおいて、非膠芽腫グループと比較して有意なスコアの上昇がある。 (p<0.05)

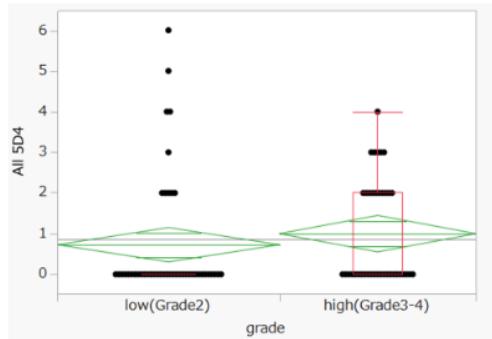


Fig.2 : 非膠芽腫グループをグレードごとにわけ、PSとISの合計を比較した。各グループ間に有意な差は認めなかった。 (p=0.381)

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」
特記事項なし