

令和2年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		ヘッジホッグシグナルの負のフィードバックを利用した、グリオブラストーマ特異的な創薬標的因子の探索		
新規・継続の別		新規 ・ 継続		
研究代表者	所属	奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域 発生医科学研究室	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	准教授・笹井 紀明		
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域・発生医科学		
	職名・氏名	博士研究員・角谷 美典		○
	所属			
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	幹細胞生物学分野・教授・近藤 亨		
概要 (100～150字程度)		膠芽腫（グリオブラストーマ）は主に脳の内部に存在する神経膠細胞（未分化グリア）が腫瘍化した悪性腫瘍で、予後が悪く、効果的な治療法が確立されていない。 本研究では、膠芽腫の原因の1つとされるヘッジホッグシグナルと膠芽腫発生の関連を調べるため、膠芽腫由来の培養細胞を用いて解析を行った。		
研究目的 (300字程度)		膠芽腫（グリオブラストーマ）は、グリア細胞に由来する悪性度の高い腫瘍で、グリオーマ幹細胞（Glioma Stem Cells; GSC）から発生し、脳神経系の深部に散らばって浸潤する。現在のところ GSC 特異的で効果的な医薬品の開発には至っていない。 膠芽腫を引き起こす遺伝的背景の1つとしてヘッジホッグ（Hedgehog; Hh）シグナル関連因子の関与が示唆されている。そこで、Hh シグナルの下流で働く因子のうち GSC 特異的なものを同定し、それをターゲットにできれば、GSC の根治薬としての作用を期待することができる。 申請者はこれまでの貴研究所・近藤教授との共同研究から、ヘッジホッグシグナル伝達に阻害的に働く G タンパク質共役受容体 GPR17 を同定してその機能を解析してきた。そこで、このアゴニストと GPR17 の作用機序を解析することにより、膠芽腫治療薬の創薬に向けた新規ターゲットの同定を目指した。		
研究内容・成果 (1000字程度・Web 会議の回数も記載)		近藤教授より膠芽腫由来のヒト細胞株 U-87 の分与を受け、まず GPR17 の発現をリアルタイム PCR によって定量した。その結果、HEK293 などの細胞に比べ、U-87 細胞で発現量が有意に減少してい		

	ることが確認された。したがって、GPR17 の発現量が減少していることと膠芽腫における細胞増殖の関連が示唆された。 次に、U-87 細胞で GPR17 の恒常発現株を作成した。そして U-87 細胞における cAMP 濃度をレポーターアッセイにより観察したところ、たしかに cAMP 濃度が上昇していることが確認された。さらに、リン酸化ヒストン 3 の染色、BrdU の取り込み実験により、細胞の増殖効率が減少していることが明らかになった。さらに、ヘッジホッグのアゴニストである SAG を恒常発現株に添加してヘッジホッグシグナルのターゲット遺伝子 (Gli1, Ptch1) の発現量をリアルタイム PCR によって定量したところ、野生型 U-87 細胞に比べ、これらの発現量が減弱していた。これらのことから、GPR17 タンパク質の発現量の増加が cAMP の発現量を増加し、ヘッジホッグシグナルを抑制する可能性が示唆された。 GPR17 にはそのアゴニストである MDL29951 が存在する。そこで、GPR17 の恒常発現株に MDL29951 を添加し、細胞増殖を調べたところ、野生型細胞に MDL29951 を添加した時に比べ、GPR17 恒常発現株においては細胞の増殖スピードが有意に減弱していた。これらのことから、GPR17 と MDL29951 が協調して膠芽腫由来細胞の細胞増殖能を減弱することが明らかになった。 この共同研究に関連して、第 43 回日本分子生物学会年会のワークショップを共同で開催したほか、Web 会議を 2021 年 1 月に 1 回行った。
成果	【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 共同研究としての学会報告はないが、「第 43 回日本分子生物学会年会」(Zoom 開催)において、ワークショップ「胚発生学と幹細胞科学の協同で切り拓く発生生物学の新時代」を共同で開催した。 【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと (該当なし) 【新聞報道】 (該当なし)