

令和4年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		老化が及ぼす脳腫瘍悪性化の脳内分子メカニズムの解明		
新規・継続の別		新規 ・ <b>継続</b>		
研究代表者	所属	愛媛大学医学部附属病院 脳神経外科	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	助教・山下大介		
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属		/	/
	職名・氏名			
	所属		/	/
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	教授・近藤亨		
概要 (100～150字程度)		<p>老化は、がんをはじめとする様々な加齢性疾患の発症において重要な役割を担っている。他のがんと同様に悪性グリオーマは高齢者の罹患率が高く、高齢患者の予後は不良であり、脳の老化が腫瘍悪性化に影響していることが推測される。本研究は、microRNAに着目し、老化が及ぼす脳腫瘍悪性化のメカニズムの解明を目的としている。</p>		
研究目的 (300字程度)		<p>グリオーマは原発性脳腫瘍の約30%を占め、その多くが最悪性の膠芽腫を含む悪性グリオーマである。現在、悪性グリオーマに対して外科的切除、放射線照射、化学療法を組み合わせた集学的治療が行われているが、その予後は極めて不良である。予後不良因子として、高齢、低い摘出率、遺伝子発現があり、加齢によっておこる悪性グリオーマの腫瘍組織内における遺伝子発現の変化も報告されているが、加齢による脳の老化が脳腫瘍の悪性化に及ぼす影響に関しては注目されていない。近年、様々な腫瘍においてmicroRNA(miRNA)の発現異常が腫瘍形成に関与していることや脳の老化に関与するmiRNAが存在することが報告されている。しかし、予後不良の高齢の悪性グリオーマに着目して脳の老化や悪性化に伴い変動するmiRNAの発現パターンを解析した報告は無い。よって、高齢者悪性グリオーマ組織に特異的に発現するmiRNAを同定し、新規治療標的分子を探索することを目的とした。</p>		
研究内容・成果 (1000字程度・Web会議の回数も記載)		<p><b>方法</b></p> <p><b>【脳内移植マウスモデルの作成と遺伝子発現解析】</b>          老齢マウス(24カ月齢)と若齢マウス(2カ月齢)を用いた脳内腫瘍移植モデルを作成し、摘出した腫瘍組織を用いてRNAシーケンスを行った。</p> <p><b>【miRNA発現プロファイリング】</b></p>		

The Cancer Genome Atlas (TCGA) やChinese Glioma Genome Atlas (CGGA) などのデータベースを利用して、高齢者悪性グリオーマ患者の腫瘍組織内のmiRNA発現を網羅的に解析し、高齢患者に特異的に発現するmiRNAを同定した。

#### 【標的遺伝子の特定】

再度TCGAやCGGAなどのデータベースを利用して、高齢者グリオーマ患者に特異的に発現する遺伝子 (mRNA) を同定した。さらに、Ehime Glioma Genom Atlas (EGGA) を作成すべく、臨床研究にて悪性グリオーマ患者8例 (高齢4例、非高齢4例) の腫瘍組織を用いてRNAシーケンスを行った。最後に、TargetScanを用いて、特異的miRNAに対する標的遺伝子をリスト化し、上記結果と照合して、特異的な標的遺伝子を特定した。

### 結果

#### 1. 脳内移植マウスモデルによる解析

若齢マウスと老齢マウスの脳内移植モデルにおける腫瘍組織内の遺伝子発現を網羅的に解析し、各グループの生存期間も比較したところ、ヒトと同様に老齢マウスの生存期間は若齢マウスと比較して有意に短かった。腫瘍組織内において、老齢マウスの腫瘍ではニューロンおよびシナプス関連遺伝子の発現が有意に低下していた。

#### 2. miR-210

TCGAデータセット (miRNA) 中のIDH野生型悪性グリオーマ409例を高齢群 (61歳以上: 203例) と非高齢群 (60歳以下: 206例) に分け、腫瘍組織内のmiRNAの発現を解析したところ、高齢悪性グリオーマ患者で有意に発現異常を示したmiRNAは8個 (上昇3個, 低下5個) であった。これらのmiRNAの中で最も生命予後に関連するmiRNAとして、発現上昇を示すmiR-210を同定した。次に、TCGAデータセット (mRNA) のIDH野生型144例を高齢群 (61歳以上: 65例) と非高齢群 (60歳以下: 79例) に分けて腫瘍組織内のmRNAの発現を解析し、同定した44個のmRNAとTargetScanによるmiR-210の標的遺伝子4048個を照合し、6個の標的遺伝子を特定した。この中で、Secretagoin (SCGN) が最もmiR-210に対する相補性が強く、生命予後にも強く影響していた。

#### 3. miR-507

TCGAデータセット (miRNA) 中のIDH野生型悪性グリオーマ409例を3つの年齢 (75歳、70歳、65歳) を境界として高齢群と非高齢群に分け、腫瘍組織内のmiRNAの発現を解析したところ、共通して高齢者悪性グリオーマで有意に発現異常を示したmiRNAは3個 (上昇1個, 低下2個) であり、この中で生命予後に関連するmiRNAとして、miR-210 (発現上昇) とmiR-507 (発現低下) を同定した。

	<p>次に、EGGAの発現解析を行い、高齢群で有意に発現異常を示した mRNA を410個（上昇368個，低下42個）同定した。TargetScanにて検索し得た標的遺伝子はmiR-210で4048個、miR-507は4704個で、EGGAで同定した410個と照合した結果、miR-507と Phospholipase A2 Group III（PLA2G3）を同定した。PLA2G3は、TCGAデータセットにおいても高齢者悪性グリオーマで特異的に発現が上昇しており、生命予後にも強く影響していた。</p> <p><b>【Web 会議】 Zoom</b> を用いて、研究の進捗と今後の研究方針について3度のディスカッションを行った。</p> <p><b>【今後】</b> 本研究で同定した miRNA の機能解析を行うことで、脳の老化が及ぼす脳腫瘍悪性化のメカニズムの解明に向けてさらに研究を進める予定である。</p>
<p>成果</p>	<p><b>【学会報告】</b></p> <p>高齢者膠芽腫の治療成績とビッグデータから得られる生物学的特徴        山下大介、末廣諭、大塚祥浩、井上明宏、高野昌平、渡邊英昭、大上史朗、國枝武治        第 35 回 日本老年脳神経外科学会（2022.4.23）徳島</p> <p>老化と社会的孤立がもたらす脳腫瘍悪性化メカニズム        山下大介、大塚祥浩、末廣諭、井上明宏、ミリアン・ゴロスぺ、國枝武治        第 22 回 日本抗加齢医学会総会（2021.6.17-19）大阪</p> <p>高齢者膠芽腫に対する治療成績と予後因子の検討        山下大介、末廣諭、井上明宏、日下部公資、中村和、大塚祥浩、高野昌平、渡邊英昭、大上史朗、大西丘倫、國枝武治        第 81 回 日本脳神経外科学会総会（2022.9.28-10.1）神奈川</p> <p>高齢者膠芽腫患者に特異的に発現する新規 microRNA および標的遺伝子の発現解析        山下大介、大塚祥浩、武田遥奈、日下部公資、末廣諭、井上明宏、渡邊英昭、本橋ほづみ、國枝武治        第 40 回 日本脳腫瘍学会学術集会（2022.12.4-6）千葉</p> <p><b>【論文発表】</b>        該当なし</p> <p><b>【新聞報道】</b>        該当なし</p>