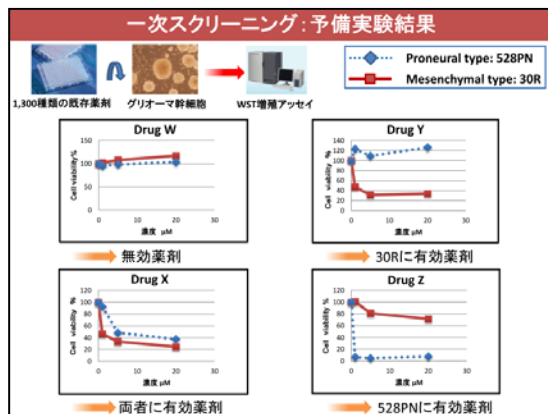


研究区分	一般共同研究	
研究課題	グリオーマ幹細胞を標的とした既存薬剤のスクリーニング	
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・助教・中田光俊
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学大学院医薬保健学総合研究科・大学院生・董宇
	所属・職名・氏名	金沢大学大学院医薬保健学総合研究科・大学院生・北林朋宏
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾敦
【研究目的】	<p>脳原発悪性腫瘍である悪性グリオーマは依然根治不能であり、本疾患の克服は医学上の重要課題である。とりわけ悪性グリオーマの予後を改善させるにはグリオーマ幹細胞を標的とした新たな化学療法の確立が重要である。新規薬物治療開発においてはドラッグリポジショニングの手法が浸透してきている。これは、ヒトでの安全性と体内動態が確認されている既存薬の新しい薬効を発見し、その薬品を別の疾患治療に適応拡大する研究手法である。本研究では、ドラッグリポジショニングによるグリオーマの新規治療の確立を目標に、グリオーマ幹細胞に対して殺細胞効果を示す既存の薬剤を見出すことを目的とする。</p>	
【研究内容・成果】	<p>保有している複数のグリオーマ幹細胞を用いて、約 1,300 種類の既存薬剤の効果をスクリーニングした。手順は下記のごとくである。</p> <p><b>①スクリーニング：グリオーマ幹細胞の増殖能を阻害する既存薬剤の探索</b>  1,301 種類の既存薬剤による 2 種類のグリオーマ幹細胞 (Proneural type, Mesenchymal type) の増殖抑制効果を調べる方法として非接着 384 穴プレートを用いた WST 増殖アッセイを行った。384 穴プレートへの細胞と薬物のデリバリーには多機能・卓上ピペットステーション：EDR-384SII (BioTec, Tokyo) を使用した。増殖能の計測は Infinite 200 Pro (TECAN, Kanagawa) で行った。陽性コントロールとして PI3K/mTOR 阻害剤である NVP-BEZ235 を使用した。薬剤ライブラリー内にある既存薬剤は 3 種類の濃度で振って増殖アッセイを行い濃度依存性の効果を確認した。</p> <p><b>②薬剤の抽出と効果の確認</b>  上記により、グリオーマ幹細胞に対して有効と考えられる既存薬剤の抽出を試みた。低濃度で殺細胞効果が高く新規性の高い薬剤を選択した。またサブタイプ別に効果が異なる場合は、臨床上難治度の高い Mesenchymal type に有効な薬剤を優先させた (下図)。</p> <p><b>成果</b>  1,301 種類の薬剤のうち 89 種類の薬剤がいずれかの細胞あるいは両者に様々な程度の増殖抑制効果を示した。ウェブ検索により、このうち過去にグリオーマに対して薬剤効果を示した報告がある薬剤が 53 種類あったため 36 種類に対して確認実験を行い最有力候補薬剤 2 種類が残った。今後は保有している他の 7 種類のグリオーマ幹細胞 (Mesenchymal type: 30R, 1123M, Proneural type: 528P, 146NS) を候補薬剤で処理し同様の効果を示すか観察する。  また一般的なグリオーマ細胞株 5 種類 (U87, U251, T98G, SNB19, U138) に対して、抽出した候補薬剤が同様の抗腫瘍効果を示すことを WST 増殖アッセイ, in vitro 遊走・浸潤アッセイで確認し、グリオーマ幹細胞株、グリオーマ細胞株に普遍的に有効な薬剤を抽出する。</p>	



<p>【成 果 等】</p>	<p>【主な論文発表】</p> <p><u>Nakada M</u>, Kita D, Watanabe T, Hayashi Y, Hamada JI. The mechanism of insensitivity against tyrosine kinase inhibitors in malignant glioma. <i>Brain Tumor Pahol</i> [Epub ahead of print] Jan 8. 2014</p> <p>Furuta T, <u>Nakada M</u>, Misaki K, Sato Y, Hayashi Y, Nakanuma Y, Hamada JI. Molecular analysis of a recurrent glioblastoma treated with bevacizumab. <i>Brain Tumor Pathology</i> 31: 32-39, 2014</p> <p>Teng L, <u>Nakada M</u>, Furuyama N, Sabit H, Furuta T, Hayashi Y, Takino T, Dong Y, Sato H, Sai Y, Miyamoto KI, Berens ME, Zhao SG, Hamada JI. Ligand-dependent EphB1 signaling suppresses glioma invasion and correlates with patient survival. <i>Neuro-Oncology</i> 15: 1710-1720, 2013</p> <p>Pyko IV, <u>Nakada M</u>, Sabit H, Teng L, Furuyama N, Hayashi Y, Kawakami K, Minamoto T, Fedulau AS, Hamada JI. Glycogen synthase kinase 3<math>\beta</math> inhibition sensitizes human glioblastoma cells to temozolomide by affecting O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation via c-Myc signaling. <i>Carcinogenesis</i> 34: 2206-2217, 2013</p> <p><u>Nakada M</u>, Nambu E, Furuyama N, Yoshida Y, Takino T, Hayashi Y, Sato H, Sai Y, Tsuji T, Miyamoto KI, <u>Hirao A</u>, Hamada JI. Integrin <math>\alpha</math>3 is overexpressed in glioma stem-like cells and promotes invasion. <i>Br J Cancer</i> 108: 2516-2524, 2013</p>
	<p>【学会発表】</p> <p>なし</p>
	<p>【その他特筆事項】</p> <p>なし</p>