

がん代謝を標的とした悪性脳腫瘍に対する新規治療法の開発

藤田医科大学

脳神経外科 准教授 大場茂生

藤田医科大学

総合医科学研究所 助教 常陸圭介

University of California, San Francisco

Department of Neurological Surgery Professor Russell O. Pieper

藤田医科大学

脳神経外科 教授 廣瀬雄一

1. 研究の背景・目的

グリオーマは原発性脳腫瘍のなかで頻度の高い腫瘍の1つであり、可及的摘出後に放射線療法とテモゾロミドを主体とした化学療法が行われているが、予後は不良である。特に World Health Organization (WHO) 分類グレード4である膠芽腫においては標準的治療を行っても平均生存期間は2年未満である(1)。

グリオーマの分子生物学的特徴に関して様々な研究が進み、2016年に発表されたWHO脳腫瘍分類ではそれらが反映され、グリオーマの診断に分子診断がとりいれられた(2)。その中で特に大きな役割を担うものの1つがイソクエン酸脱水素酵素(IDH)であり、グリオーマは変異型IDHを有する群と有さない野生型IDH群とに大きく2分された。

がん代謝は、50年以上前にWarburgが唱えた際に着目されていたが、近年再度着目されている。がん細胞内の代謝は、正常細胞と異なっており、がん細胞が置かれた環境に抵抗できるようになっている。そのため、がん細胞特有の代謝を阻害することが新たな治療法となりうる可能性が十分ある。

本研究では、IDH変異型とIDH野生型のグリオーマにおける遺伝子の発現や代謝の違い

を明らかにし、得られた結果をもとに新規治療の開発を行い、今後の臨床応用へ発展させることを目的とする。

2. 研究の対象ならびに方法

正常ヒトアストロサイト (NHA) 由来の不死化細胞 (NHAE6E7hTERT) に変異型 IDH を導入させ腫瘍化させたグリーマモデル(NHAE6E7hTERTIDH1mut) (3) と、変異型 Ras を導入した野生型 IDH グリオーマモデル(NHAE6E7hTERTRas) (4) を用いて、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析計 (CE-TOFMS) を用いた網羅的代謝解析の結果をもとに、アミノ酸代謝が治療の標的となりうるかを評価した。

抗腫瘍効果はコロニー形成能にて評価した。

Reactive Oxygen Species (ROS)は CellROX® Oxidative Stress Reagents で処置後フローサイトメトリーにて解析した。

アポトーシスは Annexin V-633 Apoptosis Detection Kit を用いて評価した。

3. 研究結果

CE-TOFMS の解析により、野生型 IDH グリオーマモデルではアスパラギンが、変異型 IDH グリオーマモデルではグルタミンが他者に比べてより低いことが示された。そこでアスパラギンをアスパラギン酸へと変換させる L-asparaginase の抗腫瘍効果を調べたところ、野生型 IDH モデルにおいてより感受性が高かった (図 1)。また抗腫瘍効果の機構としてオートファジーの関与が示唆された (図 2)。

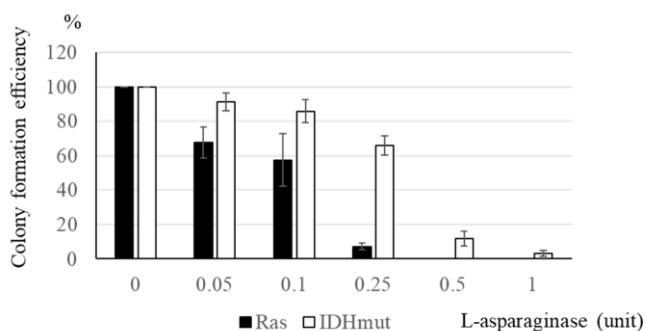


図 1. L-asparaginase による抗腫瘍効果

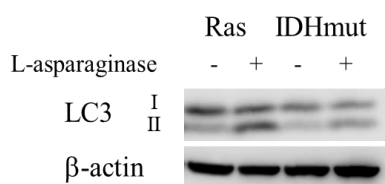


図 2. L-asparaginase によるオートファジーの誘導

次にグルタミン酸から α ケトグルタル酸 (α -KG) へと変換させる GLUD1 の阻害剤 (R162) を用いて抗腫瘍効果を調べたところ IDH 変異型モデルにおいてより感受性が高かった (図 3)。GLUD1 阻害剤は ROS を増加させ、アポトーシスを誘導した (図 4, 5)。

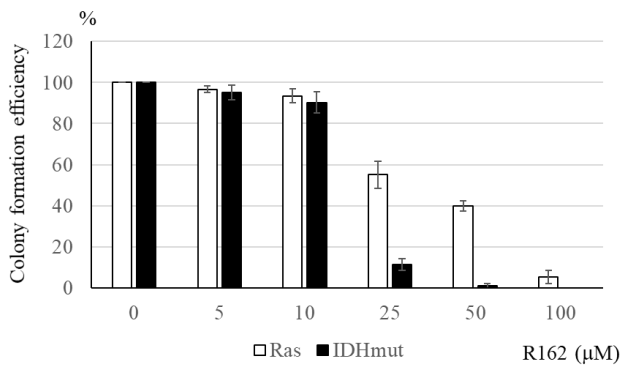


図 3. R162 による抗腫瘍効果

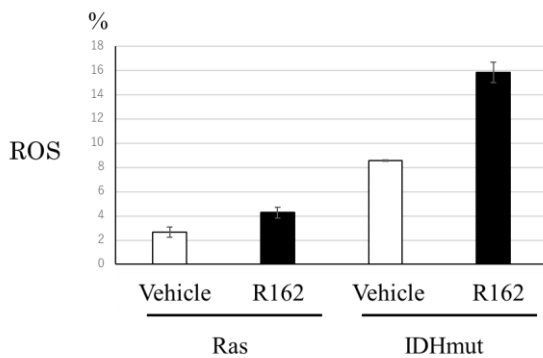


図 4. R162 による ROS の増加

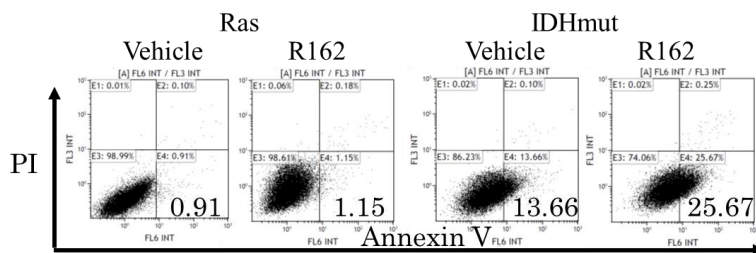


図 5. R162 によるアポトーシスの誘導

4. 考察

IDH はイソクエン酸を α -KG へと変換させ、変異型 IDH は α -KG を 2-ヒドロキシグルタル酸へと変換させることから (5)、野生型 IDH グリオーマと変異型 IDH グリオーマとでは代謝が異なっていることが想定される。網羅的代謝解析の結果予想通り解糖系やアミノ酸代謝に有意な差異を認めた。その中でも、今回はアスパラギンとグルタミンに着目し

それぞれに關与する経路を修飾することで、それぞれの IDH の型に応じた治療法が示唆された。各々アスパラギン、 α -KG を外部から投与することで抗腫瘍効果が減じたためこれらの枯渇が抗腫瘍効果の原因であることが示された。

これらの効果は、膠芽腫細胞株に人為的に変異型 IDH を導入した系においても同様の結果が認められ、変異型 IDH に起因するものと考えられた。

5. 文献

1. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.*352:987-96, 2005
2. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.*131:803-20, 2016
3. Ohba S, Mukherjee J, See WL, Pieper RO. Mutant IDH1-driven cellular transformation increases RAD51-mediated homologous recombination and temozolomide resistance. *Cancer Res.*74:4836-44, 2014
4. Sonoda Y, Ozawa T, Hirose Y, Aldape KD, McMahon M, Berger MS, Pieper RO. Formation of intracranial tumors by genetically modified human astrocytes defines four pathways critical in the development of human anaplastic astrocytoma. *Cancer Res.*61:4956-60, 2001
5. Ohba S, Hirose Y. Biological Significance of Mutant Isocitrate Dehydrogenase 1 and 2 in Gliomagenesis. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 56:170-9, 2016

6. 論文発表

日本脳神経外科学会第 80 回学術集会 2021 年 10 月
第 39 回日本脳腫瘍学会学術集会 2021 年 12 月
にて研究結果について発表した。