

悪性脳腫瘍におけるがん代謝を標的とした新規治療法の開発

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

脳腫瘍は 100 種類以上にも分類される (1)。グリオーマはいくつかの型の腫瘍の総称であるが、原発性脳腫瘍のなかで約 1/4 を占める。多くのグリオーマでは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 5 年生存率は 10%程度である (2)。

イソクエン酸脱水素酵素 (IDH) の変異が多くの grade 2/3 の diffuse glioma に認められ、driver mutation と判明したことから 2016 年以降の WHO 脳腫瘍分類ではグリオーマの診断に分子診断がとりいれられ、グリオーマは変異型 IDH を有する群と有さない野生型 IDH 群と大きく 2 分されている (1,3)。

がん細胞内の代謝 (がん代謝) は、正常細胞と異なっており、がん細胞が置かれた環境に適応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は、正常細胞への影響が少なく、新たな治療法となりうる可能性が十分ある。

本研究では、変異型 IDH の有無に起因する代謝の違いを標的とした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) (4)と、変異型 Ras を導入した野生型 IDH グリオーマモデル(NHAE6E7hTERTRas) (5)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。

U251 膠芽腫細胞株に、IDH1R132H-GFP を導入したものと、backbone vector (GFP)を導入した細胞を作成し同実験を行った (6)。

3. 研究結果

既に行っていた 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かったことから、アスパラギンとグルタミン系を標的とした薬剤の抗腫瘍効果を発表してきた。

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く (図 1)、GLUD1 阻害剤は ROS を増加させた (図 2)。ROS の阻害剤である NAC を併用すると R162 の抗腫瘍効果は減少したため、R162 による抗腫瘍効果は少なくとも一部は ROS に起因していることが示された (図 3,4)。

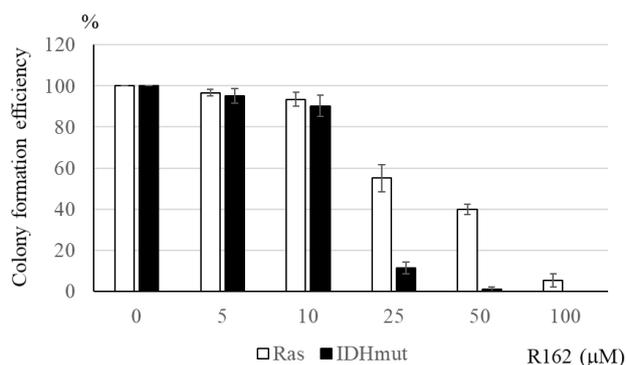


図 1. R162 による抗腫瘍効果

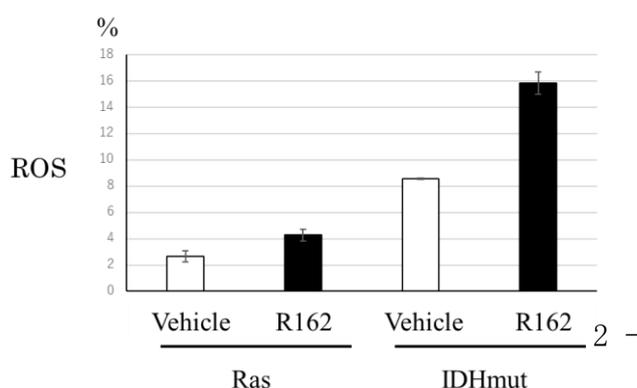


図 2. R162 による ROS の増加

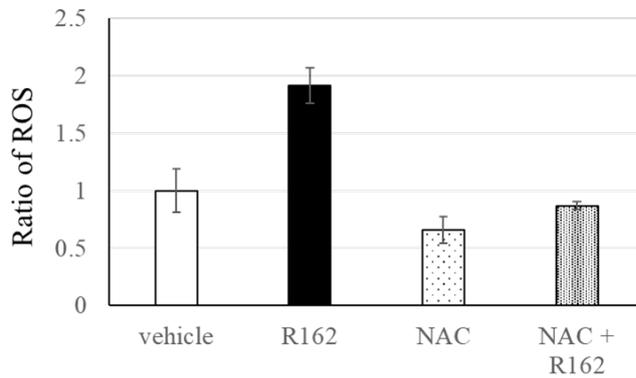


図 3. ROS の阻害剤による R162 により産生される ROS の減少。

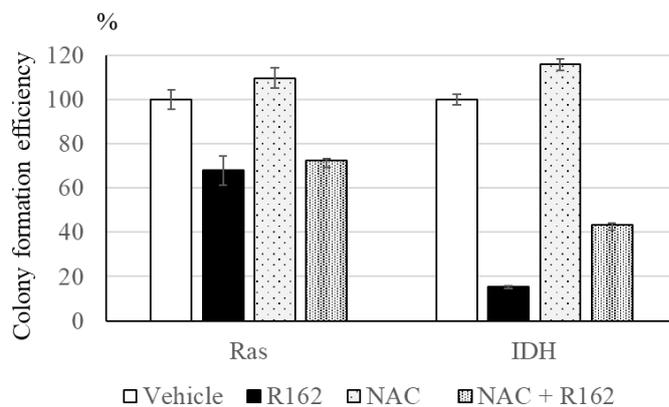


図 4. ROS の阻害剤による R162 の抗腫瘍効果の減少

次に、この効果が他の細胞株においても認められるかを確認するため、膠芽腫細胞株である U251 細胞に IDH1R132H-GFP と GFP を導入した細胞を作成した (図 5)。IDH1R132H を導入した細胞では、GFP のみを導入した細胞に比べ ROS を誘導し、R162 投与により更に ROS を誘導した (図 6)。また、R162 に対する感受性もより高かった (図 7)。これらのことより、R162 による ROS の産生と抗腫瘍効果は他の細胞株においても認められることが証明された。

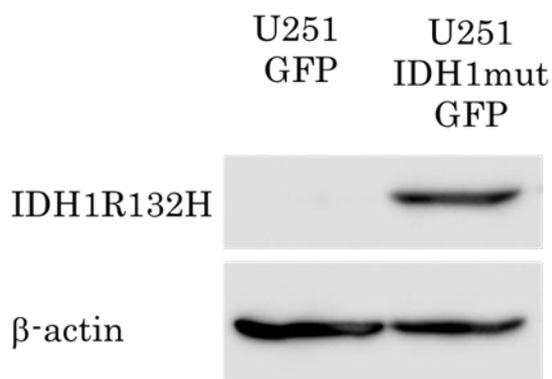


図 5. U251 株に IDH1R132H を導入した細胞を作成した。

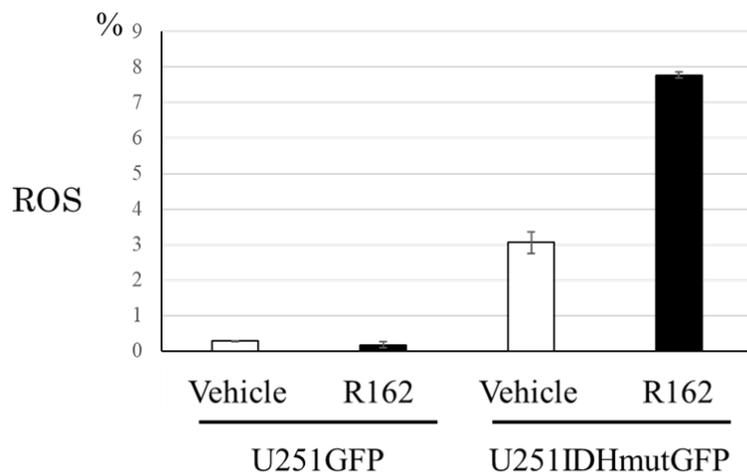


図 6. U251 株における IDH1R132H と R162 投与による ROS 産生との関係

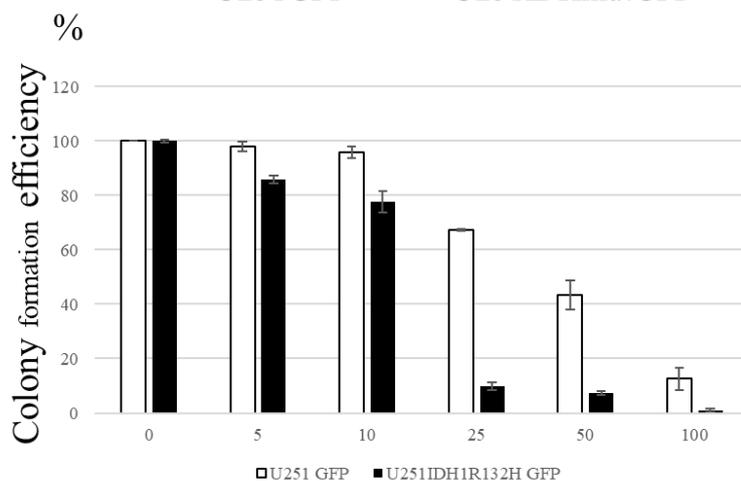


図 7. U251 GFP、U251 IDH1R132H GFP における R162 による抗腫瘍効果

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 (7)、変異型 IDH グリオーマでは野生型に比べ α -KG の枯渇に対して脆弱であることが予想されたため、グルタミン酸から α -KG へと変換させる GLUD1 の阻害剤の効果と変異型 IDH との関係調べた。

GLUD1 阻害剤である R162 は IDH 変異型のグリオーマに対してより ROS を産生し、抗腫瘍効果を認めることが明らかとなった。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際に、NADPH を NADP⁺へと変換させる。そのため、NADPH が減少しており (8)、還元型グルタチオンが減少していると推測される。グルタチオンは ROS を中和するため、変異型 IDH グリオーマにおいては 1) α -KG の減少による ROS の産生増加と 2)還元型グルタチオンの減少に基づく ROS の中和減少が相互作用し、より ROS が誘導され抗腫瘍効果が高くなるなることが推定される。

現在、*vivo* における抗腫瘍効果を確認中であり、*vivo* においても効果が認められれば将来の臨床応用に発展できる治療法でないかと思われる。

5. 文献

1. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffietti R, von Deimling A, Ellison DW. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 23(8):1231-1251, 2021
2. 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
3. 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
4. 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
5. 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
6. Ohba S, Murayama K, Kuwahara K, Pareira ES, Nakae S, Nishiyama Y, Adachi K, Yamada S, Sasaki H, Yamamoto N, Abe M, Mukherjee J, Hasegawa M, Pieper RO, Hirose Y. The Correlation of Fluorescence of Protoporphyrinogen IX and Status of Isocitrate Dehydrogenase in Gliomas. *Neurosurgery.* 87(2):408-417, 2020
7. Ohba S, Hirose Y. Biological Significance of Mutant Isocitrate Dehydrogenase 1 and 2 in Gliomagenesis. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 56:170-9, 2016
8. Tang X, Fu X, Liu Y, Yu D, Cai SJ, Yang C. Blockade of Glutathione Metabolism in IDH1-Mutated Glioma. *Mol Cancer Ther.* 19(1):221-230, 2020

6. 論文発表

日本脳神経外科学会第 81 回学術集会 2021 年 9 月

第 40 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。