

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

神経膠腫におけるがん代謝を標的とした治療法の開発

研究代表者 大場 茂生¹⁾
研究分担者 棗田 学²⁾, 藤井 幸彦²⁾, 廣瀬 雄一¹⁾

1) 藤田医科大学医学部脳神経外科 2) 新潟大学 脳研究所

研究要旨

びまん性神経膠腫は isocitrate dehydrogenase (IDH) 変異の有無で2分される。IDHは代謝と深く関係していることから IDH 変異の有無による代謝の違いが治療標的になりうるかについて検証した。網羅的代謝解析の結果、野生型 IDH 神経膠腫モデルではアスパラギンが、変異型 IDH 神経膠腫モデルではグルタミン系がより低いことが判明し、アスパラギンをアスパラギン酸へと変換させる L-asparaginase は野生型 IDH モデルにより感受性が高く、一方グルタミン酸を α -KG へと変換させる GLUD1 の阻害剤は変異型 IDH モデルにより感受性が高かった。また、膠芽腫細胞株に変異型 IDH を導入した細胞に関しても同様の結果が得られ、マウスの皮下腫瘍モデルでも同様の結果であった。IDH 変異の有無によるがん代謝を標的とした治療法は有効であることが示唆された。

A. 研究目的

びまん性神経膠腫は悪性脳腫瘍の代表的疾患であり更に亜分類される。変異型 isocitrate dehydrogenase (IDH) を有するものと有さないものがあり、これらの腫瘍は形態的には類似していても遺伝学的・代謝学的背景は大きく異なる。本研究では 1) IDH 変異型神経膠腫と IDH 野生型の神経膠腫における遺伝子の発現や代謝の違いを明らかにすること、2) 1)から得られた結果をもとに、がん代謝を標的とした新規治療法の開発や、既存の治療法の効果を高める方法の考査を行い、今後の臨床応用へ発展させることを目的とする。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

① IDH 変異型、野生型の神経膠腫における遺伝子発現や代謝の差異の解明:

IDH 変異型、IDH 野生型の神経膠腫の細胞株あるいは patient-derived xenograft (PDX) モデルを

用いて、網羅的遺伝子解析、網羅的代謝解析を行い、各群間の差異を明らかにする。

② IDH 変異の有無による代謝の差異に基づいた治療法の開発:

①で得られた結果に基づき、治療の標的となる経路を想定し、阻害剤単剤での効果、あるいは既存の治療薬と併剤することでの既存の治療薬の感受性増強効果とその機構を *in vitro* で検証する。

実験に関しては必要なものは各倫理申請を申請し承認を受けている。

C. 研究結果

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神経膠腫モデル (NHAE6E7hTERTIDH1mut) と、変異型 Ras を導入した野生型 IDH 神経膠腫モデル (NHAE6E7hTERTRas) を用いて、キャピラリー電

気泳動—飛行時間型質量分析計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。

網羅的代謝解析の結果、野生型 IDH 神経膠腫モデルではアスパラギンが、変異型 IDH 神経膠腫モデルではグルタミン、グルタミン酸、グルタチオンが他者に比べてより低いことがわかった。また、実臨床における magnetic resonance spectroscopy を用いた解析でも同様の結果であったことから、使用したモデルが有用であることが推測された。

作成したモデルを用いて、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く、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。これらは他の IDH 野生型の膠芽腫細胞株にても同一の機序で抗腫瘍効果を認めることが判明した。

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 の阻害剤を用いて抗腫瘍効果を調べたところ、IDH 野生型に比べ IDH 変異型モデルにおいてより感受性が高かった。GLUD1 阻害剤は Reactive Oxygen Species を増加させ、アポトーシスを誘導した。また、膠芽腫細胞株に変異型 IDH1 を導入した細胞に関しても同様の結果が得られた。更には shRNA を用いて遺伝子学的に GLUD1 を抑制した細胞においても同様の抗腫瘍効果を認めた。

ヌードマウスの皮下に膠芽腫細胞株と変異型 IDH を発現させた膠芽腫細胞株とを移植し、L-asparaginase、GLUD1 阻害剤の効果をけんしょうしたところ、in vitro の結果と同様に、IDH 野生型膠芽腫株に対しては L-asparaginase が抗腫瘍効果を認め、変異型 IDH 発現膠芽腫株に対しては GLUD1 阻害剤が抗腫瘍効果を呈した。

D. 考察

脳腫瘍に対する多くの研究の結果、神経膠腫は IDH 変異を有するものと有さないものと大きく二分され、これらは形態としては類似しているものの、腫瘍の発生機構が全く異なるものであることが明らかとなった。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 ハイドロキシグルタル酸へと変換させる。このことから、IDH 変異の有無により腫瘍の代謝が異なり、それ

ぞれの代謝機構に応じた治療法の可能性が考えられる。

いくつかの代謝物において、IDH 野生型と変異型腫瘍で有意な差を認めたが、そのうちアスパラギンとグルタミンの代謝に今回は着目した。In vitro、in vivo の実験系では、IDH 野生型腫瘍ではアスパラギン経路、IDH 変異型腫瘍ではグルタミン経路を標的とした治療が効果的であり、IDH 変異による代謝の差異に基づいた治療法は有効である可能性が示唆された。現在、新潟大学脳研究所にて作成された PDX モデルにおいても同様の効果を認めるかを確認している。

また、悪性神経膠腫に対しては放射線とテモゾロミドを用いた治療法が主に行われている。しかしながら、主たる化学療法薬であるテモゾロミドに耐性となった腫瘍に対してはその後の治療が困難であり、新規治療法の開発が期待される。それゆえ、今回検討したがん代謝を標的とした治療法はこうしたテモゾロミド耐性となった腫瘍に対しても有効であれば非常に有意義なものと考えられる。現在、テモゾロミド耐性株におけるアスパラギンあるいはグルタミン経路を標的とした治療法が有効であるかの検討も行っており、その結果がまたれる。

E. 結論

IDH 変異の有無に応じた、がん代謝を標的とした治療法は有効であることが示唆された。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Shigeo Ohba, Takao Teranishi, Akiyoshi Hirayama, Keisuke Hitachi, Hisateru Yamaguchi, Manabu Natsumeda, Kensuke Tateishi, Russell O Pieper. Targeting amino acid metabolic vulnerabilities in IDH-mutant and IDH-wildtype gliomas, Yuichi Hirose. 28th Annual Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology (SNO) 2023 年 11 月 15-19 日 Vancouver, British Columbia, CA

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし