

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10864

研究課題名(和文) IDH変異陽性グリオーマに対するグルタミン代謝を標的とした治療法の開発

研究課題名(英文) Target therapy of glutamine metabolism in glioma with IDH mutation

研究代表者

田中 一寛 (Tanaka, Kazuhiro)

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：70467661

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：低悪性度神経膠腫(グリオーマ)ではイソクエン酸デヒドロゲナーゼ(IDH)遺伝子変異がしばしば認められ、2-ヒドロキシグルタル酸(2HG)の増加が報告されている。本研究ではグルタミン酸の低下に注目し、グルタミン代謝関連遺伝子であるGDH1/2発現が亢進し、BCAT1発現が低下していた。これらの結果からIDH1遺伝子変異型グリオーマではグルタミン酸消費が亢進し、細胞増殖がグルタミン代謝に依存している可能性が示唆された。しかし、グルタミン不含有培地でのIDH変異型および野生型グリオーマ細胞培養では細胞増殖能に有意差を認めなかった。グルタミナーゼ(GLS)やGDH阻害剤の投与でも同様の結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

浸潤性の低悪性度グリオーマ、および低悪性度グリオーマから悪性化した続発性膠芽腫の50-80%にイソクエン酸デヒドロゲナーゼ(IDH)の変異が報告されている。しかし、IDH変異によって特異的に産生される2-ヒドロキシグルタル酸(2HG)の分子機能や細胞内代謝変化については不明な点が多い。本研究ではグリオーマ培養細胞や手術で得られた組織標本を用いた代謝物解析によって報告してきたグルタミン代謝機構の変化がIDH変異型グリオーマの生存、増殖、他の代謝機構に及ぼす影響を分子生物学的手法などを用いて検証した。未だ効果的な治療法のないグリオーマに対して新しい治療法(個別化治療)の一助になると思われる。

研究成果の概要(英文)：Isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) gene mutations are frequently observed in low-grade glioma and strongly associated with the accumulation of 2-hydroxyglutarate (2HG). A metabolomic analysis demonstrated higher levels of 2HG in IDH1 mutant glioma cells and surgical tissues. Interestingly, glutamate levels were significantly decreased in IDH1 mutant gliomas. Through an analysis of metabolic enzyme genes in glutamine pathways, the expressions of branched-chain amino acid transaminase 1 (BCAT1) were reduced and glutamate dehydrogenase (GDH) levels were elevated in IDH1 mutant gliomas, suggesting that IDH1 mutant glioma cells are highly dependent on the glutaminolysis. There was, however, no significant difference in the growth and survival between IDH1 wild-type and mutant glioma cells treated with glutamine deprivation as well as glutaminase (GLS) and GDH inhibitor.

研究分野：脳神経外科

キーワード：IDH変異 グルタミン代謝 グリオーマ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳に発生する神経膠腫(グリオーマ)では TCA 回路内の α ケトグルタル酸 (α KG) の産生を制御するイソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) の遺伝子変異が発見され (Yan et al. N Engl J MED 2009)、2-ヒドロキシグルタル酸 (2HG) は変異型 IDH によって α KG から産生される癌代謝物として注目されている (Dang et al. Nature 2009)。我々は自施設(神戸大学附属病院)で 1983 年から 2012 年に治療されたグリオーマ Grade 患者 55 人の IDH1 遺伝子変異を解析し、全生存期間に及ぼす影響を報告した (Tanaka K et al. Clin Neurol Neurosurg. 2015)。さらに、IDH1 遺伝子変異のあるグリオーマ患者の術前 MR スペクトロスコピー (MRS) や摘出標本による質量分析装置を用いたメタボローム解析によってグリオーマ腫瘍組織で 2HG の上昇と共にグルタミン酸濃度が低下し、術前診断に有用であることを報告した (Nagashima H, Tanaka K et al. Neuro Oncol. 2016)。しかし、2HG 産生のメカニズムやグルタミン代謝が IDH 変異型グリオーマに及ぼす影響については未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究では IDH 変異によるグリオーマ細胞内代謝物の変化、特にグルタミン代謝関連酵素の発現・機能変化を明らかにする。また、IDH 遺伝子変異による 2HG 産生メカニズムについてグルタミン酸代謝遺伝子やそれに関与する特定のマイクロ RNA を明らかにする。さらに、グルタミン酸代謝酵素阻害剤や、グルタミン酸代謝を抑制するマイクロ RNA、既存の化学療法を併用して、相乗的・相加的な抗腫瘍効果が得られるかを明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、グリオーマ患者の MR スペクトロスコピー検査や腫瘍標本の質量分析器による網羅的メタボローム解析による臨床的側面からグリオーマの代謝機構にアプローチする方法と、グリオーマ培養細胞株あるいは既存のグリオーマ初期継代培養細胞株に IDH 変異遺伝子を導入したメタボローム解析による基礎的側面からアプローチする方法を統合して、IDH 変異に特徴的な代謝産物の変化について総合的に評価する。特に、今まで解析した代謝物の変化から IDH 変異に特徴的なグルタミン酸代謝関連遺伝子を抽出し、IDH 変異のあるグリオーマ細胞や動物モデルに対する抗腫瘍効果を検討する予定である。

MR スペクトロスコピーを用いた術前グリオーマ患者のメタボローム解析を行い、IDH 変異の予想される患者を絞り込む。それらの患者から得られたグリオーマ組織について質量分析器を用いたメタボローム解析を行う。IDH 変異に特徴的な 2HG やグルタミン代謝関連遺伝子を抽出する。

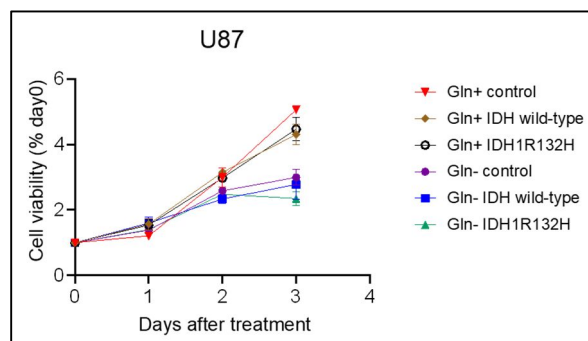
グリオーマ培養細胞に IDH 遺伝子変異を導入した時のマイクロ RNA の変化を、マイクロ RNA マイクロアレイにて解析する。有意に変動したマイクロ RNA に関しては IDH 遺伝子変異で変動したグルタミン代謝分子との関係を、ルシフェラーゼアッセイやマイクロ RNA inhibitor などによるリアルタイム PCR 解析などで明らかにする。

また、2HG に影響を及ぼすと考えられるグルタミン代謝酵素 (グルタミントランスポーター (SLC1A5)、グルタミナーゼ (GLS)、グルタミンシンセターゼ (GS)) に注目し、グルタミン代謝阻害剤 (グルタミナーゼ (GLS) 阻害剤、グルタミン代謝抑制マイクロ RNA) あるいは既存の化学療法との併用効果について解析を行う。

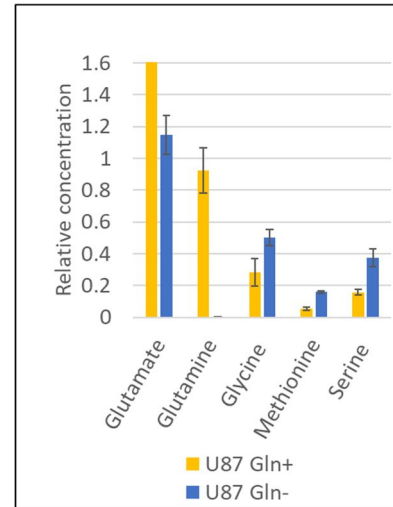
4. 研究成果

1) IDH1 遺伝子変異型グリオーマでは IDH1 野生型に比べて 2HG 上昇およびグルタミン酸低下を認め、グルタミン代謝経路に関連する遺伝子である GDH1/2 発現が亢進し、BCAT1 発現が低下していた。これらの結果は IDH1 遺伝子変異型グリオーマではグルタミン酸消費が亢進し、細胞増殖や生存がグルタミン代謝に依存している可能性が示唆された。

2) IDH 変異を導入した U87 グリオーマ細胞はグルタミン不含有培地の培養で細胞増殖能の低下を認めたが、野生型細胞に比べて著明な増殖抑制を認めることはなかった(右図)。GLS 阻害剤や GDH 阻害剤の投与でも同様の結果であった。マイクロ RNA についての解析は行わなかった。



3) IDH 変異型グリオーマにおけるグルタミン代謝の役割は細胞増殖や生存への直接的な影響より、ストレス応答(レドックス反応)やミトコンドリア機能維持などに影響している可能性があり、グルタミン不含有培地での培養による他のアミノ酸の変動や機能を解析することを検討した。特にセリンやグリシン、メチオニンの上昇(右図)に注目し、次年度の科研基盤研究で継続している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanaka H, Yamamoto D, Ikeda M, Morikawa M, Ueda K, Tanaka K, Sasayama T, Kohmura E.	4. 巻 54
2. 論文標題 Embryonal brain tumor with unknown primary lesion and massive cerebrospinal fluid dissemination: A case report.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Clin Neurosci.	6. 最初と最後の頁 125-128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jocn.2018.04.046.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakata J, Sasayama T, Tanaka K, Nagashima H, Nakada M, Tanaka H, Hashimoto N, Kagawa N, Kinoshita M, Nakamizo S, Maeyama M, Nishihara M, Hosoda K, Kohmura E.	4. 巻 142(2)
2. 論文標題 MicroRNA regulating stanniocalcin-1 is a metastasis and dissemination promoting factor in glioblastoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurooncol.	6. 最初と最後の頁 241-251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11060-019-03113-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagashima H, Sasayama T, Tanaka K, Kyotani K, Sato N, Maeyama M, Kohta M, Sakata J, Yamamoto Y, Hosoda K, Itoh T, Sasaki R, and Kohmura E.	4. 巻 136(2)
2. 論文標題 Myo-inositol concentration in MR spectroscopy for differentiating high grade glioma from primary central nervous system lymphoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Neurooncol.	6. 最初と最後の頁 317-326
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11060-017-2655-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tanaka K, Sasayama T, Nagashima H, Maeyama M, and Kohmura E
2. 発表標題 Magnetic resonance spectroscopy of glutamate and 2-hydroxyglutarate in patients with the IDH1 mutant glioma: A prospective validation study
3. 学会等名 第22回国際脳腫瘍治療研究会議（ICBTRT）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中一寛、篠山隆司、前山昌博、藤田祐一、伊藤智雄、甲村英二
2. 発表標題 カルムスチン脳内留置用剤（ギリアデル）の治療効果と問題点
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第77回学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tanaka K, Sasayama T, Uno T, Maeyama M, Fujita Y, Nagashima H, Irino Y, and Kohmura E
2. 発表標題 Glutamine deprivation alters one-carbon metabolism to maintain glioma cell survival
3. 学会等名 23rd Annual Scientific Meeting and Education Day of the society for Neuro-Oncology (SNO) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中一寛、篠山隆司、宇野滝子、前山昌博、藤田祐一、入野康宏、甲村英二
2. 発表標題 グルタミン飢餓状態のグリオーマ細胞における一炭素代謝の調整と新規治療標的の探索
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中一寛、長嶋宏明、篠山隆司、前山昌博、佐藤直子、京谷勉輔、伊藤智雄、甲村英二
2. 発表標題 MR Spectroscopyを用いた2HG測定によるIDH遺伝子変異陽性脳幹グリオーマ診断の有用性
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第76回学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中一寛、長嶋宏明、篠山隆司、前山昌博、佐藤直子、小山淳二、河村淳史、京谷勉輔、伊藤智雄、甲村英二
2. 発表標題 脳幹グリオーマに対するMR Spectroscopyを用いたIDH遺伝子変異診断の有用性
3. 学会等名 第35回日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中一寛、篠山隆司、長嶋宏明、前山昌博、甲村英二
2. 発表標題 術前MR SpectroscopyによるグリオーマIDH1遺伝子変異予測の検討
3. 学会等名 第47回日本神経放射線学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	篠山 隆司 (SASAYAMA Takashi) (10379399)	神戸大学・医学部附属病院・講師 (14501)	
研究分担者	水川 克 (MIZUKAWA Katsu) (80403260)	神戸大学・医学部附属病院・非常勤講師 (14501)	