

令和元年6月24日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16631

研究課題名(和文) IDH変異型神経膠腫における2HGによるミトコンドリア機能異常と新規治療展開

研究課題名(英文) A new treatment targeting 2HG induced mitochondrial dysfunction in IDH-mutant gliomas

研究代表者

阿部 英明(Abe, Hideaki)

新潟大学・脳研究所・非常勤講師

研究者番号：80783331

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：悪性神経膠腫には、高率にイソクエン酸デヒドロゲナーゼ(IDH)遺伝子変異を有し、同変異は2-ヒドロキシグルタル酸(2-HG)という代謝物を産生する事が腫瘍化の原因にと考えられている。しかし、IDH変異を有する悪性神経膠腫は予後良好である。2-HGの産生を抑制するIDH変異阻害剤が盛んに研究されているが、我々は2-HGは腫瘍細胞内ミトコンドリアにシャトルされ蓄積する事で、腫瘍細胞のミトコンドリア機能異常を来すと想定しており、2-HGを抑制することは腫瘍細胞に取ってはプラスに働く可能性がある。期間中には確信には迫れなかったが、新しい治療パラダイムをもたらす重要な研究と位置づけられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性神経膠腫は極めて予後不良な脳腫瘍で、未だ根本的治療法は編み出されていない。悪性神経膠腫に高頻度に認められるイソクエン酸脱水素(IDH)変異に対する阻害剤が開発されたが、臨床ではその有効性は証明されておらず、ある研究ではIDH阻害剤を投与した方が腫瘍の増殖が速くなる事さえ解っている。本研究ではIDH変異型悪性神経膠腫に対して何故、IDH阻害剤が無効なのかに迫った、大変意義深い研究である。

研究成果の概要(英文)：Mutations of isocitrate dehydrogenase (IDH) genes are frequently found in malignant gliomas. These mutations produce the oncometabolite 2-hydroxyglutarate (2-HG), which is thought to cause gliomagenesis. However, it is also known that IDH-mutant gliomas have relatively good prognoses. We hypothesized that 2-HG produced by IDH-mutant gliomas accumulate inside mitochondria, causing mitochondrial dysfunction to IDH-mutant gliomas. IDH mutant inhibitors, which inhibit 2-HG, may actually be beneficial to IDH-mutant glioma cells. We set out to prove this hypothesis. While we could not prove this hypothesis within the funding period, but this notion could cause a paradigm shift in the treatment of IDH-mutant gliomas.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：IDH グリオーマ 2-HG ミトコンドリア 免疫染色

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の網羅的遺伝子解析により、悪性神経膠腫においてイソクエン酸デヒドロゲナーゼ(IDH) 遺伝子に変異を有する群が存在することが明らかとなった。この群は野生型の群に比較して明らかに予後良好であるが、その原因は未だ明らかとなっていない。IDH 遺伝子変異型の腫瘍細胞においては、変異型 IDH によって代謝産物の 2-hydroxyglutarate (2-HG) が異常に産生・蓄積されるが、細胞の腫瘍化との関連が疑われ、一般的には治療の target として注目されている。我々はこの分子がミトコンドリアに異常蓄積し、ミトコンドリアの肥大化と機能異常を引き起こし、腫瘍細胞の弱体化を招いていると仮定している。このような仮説に至った理由としては、以下のものがある。

IDH 変異を有する xenograft ではミトコンドリアが肥大していたという報告がある。
(引用文献)

2-HG を分解する酵素 2-HGDH(2-HG デヒドロゲナーゼ)はミトコンドリア内にのみ存在する。

培養細胞株に IDH 変異及び CIC 変異蛋白を強発現させた所、細胞の増殖能が減り、ミトコンドリア関連遺伝子の発現異常が多数見られたとの報告がある。(引用文献)

2-HGDH 酵素機能欠損を来す 2-hydroxyglutari aciduria という病気では、-KG がミトコンドリア内にシャトルされ、2-HG として蓄積することが証明されている。(引用文献)

2. 研究の目的

IDH 変異型悪性神経膠腫では 2-HG がミトコンドリア内に異常蓄積し、ミトコンドリアの肥大化と機能異常を引き起こし、腫瘍細胞の弱体化を招いているという仮説を実証し、新規治療法の開発に繋げることを目的とする。

3. 研究の方法

IDH 遺伝子変異細胞におけるミトコンドリア機能異常を証明すべく、IDH 遺伝子変異型の神経膠腫細胞株(BT142, MGG152)と IDH 遺伝子野生型の神経膠腫細胞株(U87, T98)において、ミトコンドリア内膜タンパク質 Tim23 (Fig 1)とミトコンドリア外膜タンパク質 Tom20 に対する抗体を用いて蛍光免疫染色を行い、ミトコンドリアの量的、形態的違いを調査した。また、手術標本において同抗体を用いた DAB 染色を行い、IDH 変異型の腫瘍と野生型腫瘍でのミトコンドリアの量的違いを評価した。

4 . 研究成果

IDH 遺伝子変異細胞におけるミトコンドリア機能異常を証明すべく、IDH 遺伝子変異型の神経膠腫細胞株 (BT142, MGG152) と IDH 遺伝子野生型の神経膠腫細胞株 (U87, T98) において、ミトコンドリア内膜タンパク質 Tim23 (Fig 1) とミトコンドリア外膜タンパク質 Tom20 に対する抗体を用いて蛍光免疫染色を行い、ミトコンドリアの量的、形態的違いを調査した結果、両者の違いは明らかとはならず、この手法においてミトコンドリアの違いを見出すことは困難と思われた。これは古い電子顕微鏡の報告と矛盾はなく、ミトコンドリアの大きさを規定する因子は IDH 変異のみならず、他の因子も関わっていることが想定された。

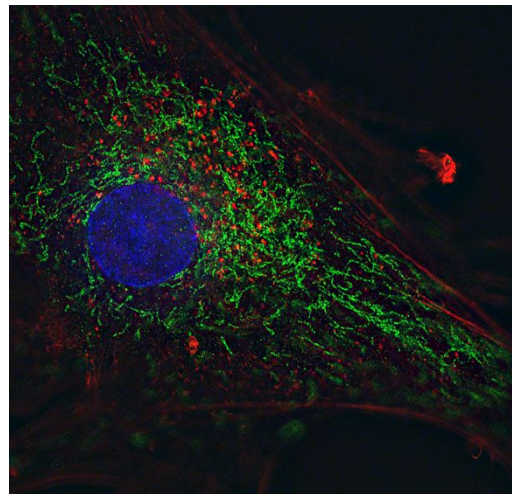


Fig 1 U87MG 細胞 Tim23 蛍光免疫染色

2-HG の産生を抑制する IDH 変異阻害剤が盛んに研究されているが、我々は 2-HG は腫瘍細胞内ミトコンドリアにシャトルされ蓄積する事で、腫瘍細胞のミトコンドリア機能異常を来すと想定しており、2-HG を抑制することは腫瘍細胞にとってプラスに働く可能性がある。事実、IDH 変異型グリオーマ細胞株に IDH 阻害剤を投与したところ、cell viability があがったとの報告もある (引用文献)。期間中には核心には迫れなかったが、新しい治療パラダイムをもたらす重要な研究と位置づけられる。

引用文献

Nevis *et al.* Increased mitochondrial activity in IDH1-R132H mutant human oligodendroglioma xenograft model: in situ detection of 2-HG and α -KG. *Acta Neuropathol Commun* 1:18, 2013.

Chittaranjan *et al.* Mutations in CIC and IDH1 cooperatively regulate 2-hydroxyglutarate levels and cell clonogenicity. *Oncotarget* 5(17):7960-7979, 2014.

Stuys *et al.*, Investigations by mass isotopomer analysis of the formation of D-2-hydroxyglutarate by cultured lymphoblasts from two patients with D-2-hydroxyglutaric aciduria. *FEBS Letters*, 2004.

Tateishi *et al.*, Extreme vulnerability of IDH1 mutant cancers to NAD⁺ depletion. *Cancer Cell* 28:773-784, 2015.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Abe H, Natsumeda M, Kanemaru Y, Watanabe J, Tsukamoto Y, Okada M, Yoshimura J, Oishi M, Fujii Y. MGMT expression contributes to temozolomide resistance in H3K27M-mutant diffuse midline gliomas and MGMT silencing to temozolomide sensitivity in IDH-mutant gliomas. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 58:290-295, 2018.

〔学会発表〕(計 1 件)

阿部英明、他。H3K27M-mutant DMG 細胞における MGMT 発現解析及び TMZ 耐性機序の検討。

第 18 回日本分子脳神経外科学会 (2018 年 8 月)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：棗田 学

ローマ字氏名： Manabu Natsumeda

研究協力者氏名：岡田 正康

ローマ字氏名： Masayasu Okada

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。