

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09488

研究課題名(和文) IDH変異神経膠腫のDNA高変異に起因する悪性化回避を目指した治療法の開発

研究課題名(英文) Therapeutic strategy for IDH mutant gliomas with DNA hypermutation phenotype

研究代表者

立石 健祐 (TATEISHI, Kensuke)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：00512055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：神経膠腫(グリオーマ)のアルキル化剤治療後に生じるDNA高変異状態と悪性転化の機序解明を図ること、またDNA高変異状態を呈したグリオーマに対する治療標的の探求を図ることを研究目的に掲げ、細胞・動物実験を行った。本研究にてDNA高変異状態を呈する内因性、外因性IDH神経膠腫の作成に成功した。これらのモデルを用いてDNA高変異状態が腫瘍進展に及ぼす影響を検討した。また治療標的分子の探索を行った。研究成果は国際学術誌に発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IDH変異神経膠腫は30-40代の働き盛りの世代に好発して発症する疾患である。治療はアルキル化剤テモゾロミドを用いることが多いが、治療に伴うDNA修復異常が問題となっている。本研究ではDNA修復異常がもたらす影響を調べたところ治療によって生じるDNA高変異は腫瘍の増悪に及ぼす影響は強くないことをモデルを通して明らかにした。このことは治療によるDNAレベルの異常は必ずしも患者さんの治療計画に影響を及ぼさないことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We performed in vitro and in vivo experiments to elucidate the mechanism of DNA hypermutation and malignant transformation of gliomas after alkylating agent treatment. We also explored therapeutic targets for gliomas with DNA hypermutation. In this study, we could establish endogenous and exogenous IDH gliomas with DNA hypermutation. Using these models, we investigated the effects of DNA hypermutation on tumor progression. We also explored for therapeutic target molecules. We published peer reviewed international journals to demonstrate these data.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：脳腫瘍 神経膠腫 IDH変異 DNA修復異常 NAD+ テモゾロミド アルキル化剤

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

原発性頭蓋内悪性腫瘍である神経膠腫には低悪性度神経膠腫 (WHO grade 2) から非常に悪性度の高い grade 4 (膠芽腫)が含まれる。神経膠腫の治療予後は手術の精度や放射線化学療法が発達したものの革新的な向上は得られておらず、革新的な治療法の開発が必要とされる。近年の分子遺伝学の進歩により神経膠腫の発生、悪性化に関連する遺伝子異常が明らかになっている (TCGA, NEJM. 2016)。中でも *IDH* (*IDH1/2*)変異は低悪性度神経膠腫の約9割に存在する遺伝子変異である。*IDH* に変異が生じると TCA サイクルの機能低下が生じるとともに、悪性代謝産物である 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG)が細胞内で産生される。2-HG は α -KG が有する様々な生理的機能を阻害する。特に DNA 脱メチル化酵素である TET2 の阻害は、多種の遺伝子プロモータ領域に存在する CpG アイランドの広範なメチル化状態を引き起こす (G-CIMP, Turcan et al. Nature. 2012)。これに対して申請者らは *IDH1* 変異を直接標的とした治療法を用いても一度生じたエピゲノム変化はリプログラミングされないことを明らかにした (Tateishi et al. Cancer Cell. 2015)。これらの結果は *IDH* 変異が神経膠腫の発生初期に重要な役割を担う遺伝子変異である一方、*IDH* 変異に対する個別化医療を目指す際にはエピゲノム変化の下流分子を標的とすることが望ましいと考えられた。

IDH 変異を有する神経膠腫は野生型と比較して臨床上の予後は良好であることが知られている。その根拠として 2-HG 産生に伴いグルタチオン合成に必要な NADPH が消費され、その結果グルタチオン生成の抑制に伴う活性酸素 (ROS)の発生が挙げられている。同様に申請者らのグループはグルタミン酸合成に必要な BCAT を 2-HG が抑制することでグルタチオン生成が抑制されることを見出した (Mcbrayer et al. Cell. 2018)。また神経膠腫に対する標準的治療は *IDH* 変異の有無に関わらず外科治療とともに放射線治療とアルキル化剤テモゾロミド (TMZ) 内服化学療法が挙げられるが、上述の機序により放射線・化学療法による細胞脆弱性が生じている可能性がある。実際に画像解析の結果 *IDH* 変異神経膠芽腫は野生型と比較して腫瘍縮小効果が大きいことが示されている。TMZ は DNA 修復機構であるミスマッチ修復機構 (MMR) の消耗により細胞毒性を発揮するが、神経膠腫では TMZ の長期投与により MMR 変異による MMR 活性が失活することで治療耐性が生じることが判明している (Cahill DP et al, Clin Cancer Res, 2007)。更には *IDH* 変異神経膠腫では MMR 活性が失活することにより再発時に DNA 高変異状態が生じ悪性転化に至ることが近年明らかになっている。(Johnson et al. Science. 2014)。これに対して *IDH* 野生型神経膠芽腫では DNA 高変異状態の発生頻度は低い。このことから、DNA 高変異状態は *IDH* 変異腫瘍細胞において特に惹起されやすい現象と考えられる。すなわち *IDH* 変異神経膠腫では DNA 修復機構変化や ROS 産生により TMZ が高い治療効果を発揮する可能性、その反面過剰な DNA 修復により DNA 高変異状態を誘発し、再発時に悪性転化する可能性が挙げられる。このことから *IDH* 変異神経膠腫に対する治療アプローチとして、治療効果を長期にわたり発揮し、かつ DNA 高変異状態を背景とした悪性転化を回避するかが重要かと考えられた。

2 . 研究の目的

本研究では独自に樹立した内因性 IDH 変異神経膠腫細胞株を用いて, 1) DNA 高変異が IDH 変異神経膠腫に生じる機序の解明. 2) IDH 変異神経膠腫において DNA 高変異を誘導しない治療法の開発. 3) DNA 高変異が生じた際の治療法の開発を推進することを目指す. これにより IDH 変異神経膠腫に対する最適な治療法を確立することを本研究の目的とする.

3 . 研究の方法

本研究では研究者らが樹立した内因性 *IDH1* 変異及び野生型神経膠芽腫幹細胞株及び *IDH1* 変異強制発現神経膠芽腫幹細胞株 (MGG18-IDH1-R132H)を用いて実験を行う. 更に申請者が最近樹立した内因性 DNA 高変異状態を呈した *IDH1* 変異神経膠腫細胞株 (YMG6R3T) は長期にわたる臨床経過中に生じた DNA 変化であり, 初発検体(YMG6R1) や高変異を呈していない初期再発検体 (YMG6R2), DNA 高変異後の再発検体 (YMG6R4T)と比較することで後述する分子生物学的機序の検討に活用する. また新たな細胞株樹立にも継続して取り組む.

4 . 研究成果

独自に樹立した内因性 *IDH1* 変異グリオーマ MGG152 細胞を用いて mismatch repair 遺伝子の一つである *MSH6* のノックダウンを図った。この細胞とコントロール細胞に対し TMZ を長期間にわたり連続投与した。Whole exome sequencing (WES) を用いて変異状態を検討したところ、コントロール細胞と比較して tumor mutational burden がおよそ 80 倍と上昇しており、またアルキル化剤投与後に特有の塩基置換パターンが確認されたことから TMZ 誘発性に DNA hypermutation phenotype (HM) が発生した可能性が強く示唆された。次に MGG152 細胞に対し同様の条件で TMZ を投与後、DNA を採取した。WES 解析の結果 MMR 変異が内因性に発生しており、また HM の存在が確認された。これらのペア腫瘍細胞モデルはいずれも *in vitro* 培養下で安定して増殖可能となった。これにより DNA 高変異状態の及ぼす生物学的特徴を検証可能な *IDH1* 変異グリオーマ細胞株の樹立を世界に先駆けて成功した。その結果、DNA 高変異状態への移行プロセスを研究レベルでモニタリング可能となった。これらの細胞に対して HTS を行い、複数の化合物が候補薬剤として見出ししており、現在さらなる解析を進めている。またコントロール細胞と TMZ 長期投与後 HM を呈した MGG152 細胞をマウス脳内に定位的に移植し生存分析を行ったが、両群間で予後に有意な差は認められなかった。加えて内因性 DNA 高変異グリオーマモデル (YMG6R) から細胞株を作成した。経時的に得られた再発検体と細胞株をそれぞれ検討したところ、HM は可逆的な変化を示した。このことから HM 自体がグリオーマの悪性化促進に及ぼす影響は乏しいことが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tateishi Kensuke et al.	4. 巻 80
2. 論文標題 A Hyperactive RelA/p65-Hexokinase 2 Signaling Axis Drives Primary Central Nervous System Lymphoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 5330 ~ 5343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.can-20-2425	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 該当する
1. 著者名 Nagashima Hiroaki, Lee Christine K., Tateishi Kensuke, Higuchi Fumi, Subramanian Megha, Rafferty Seamus, Melamed Lisa, Miller Julie J., Wakimoto Hiroaki, Cahill Daniel P.	4. 巻 10
2. 論文標題 Poly(ADP-ribose) Glycohydrolase Inhibition Sequesters NAD ⁺ to Potentiate the Metabolic Lethality of Alkylating Chemotherapy in IDH-Mutant Tumor Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Discovery	6. 最初と最後の頁 1672 ~ 1689
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2159-8290.cd-20-0226	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 該当する
1. 著者名 Tsuchiya Junichi, Yoneyama Tomohiro, Ohtake Makoto, Tateishi Kensuke, Bae Hyeeyeol, Kishino Mitsuhiro, Tateishi Ukihide	4. 巻 41
2. 論文標題 Redox reaction and clinical outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine Communications	6. 最初と最後の頁 567 ~ 574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/mnm.0000000000001197	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 Tateishi Kensuke, Ikegaya Naoki, Udaka Naoko, Sasame Jo, Hayashi Takahiro, Miyake Yohei, Okabe Tetsuhiko, Minamimoto Ryogo, Murata Hidetoshi, Utsunomiya Daisuke, Yamanaka Shoji, Yamamoto Tetsuya	4. 巻 8
2. 論文標題 BRAF V600E mutation mediates FDG-methionine uptake mismatch in polymorphous low-grade neuroepithelial tumor of the young	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-020-01023-3	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 Tsuchiya Junichi, Yoneyama Tomohiro, Ohtake Makoto, Tateishi Kensuke, Bae Hyeyeol, Kishino Mitsuhiro, Tateishi Ukihide	4. 巻 41
2. 論文標題 Redox reaction and clinical outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine Communications	6. 最初と最後の頁 567 ~ 574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MNM.0000000000001197	査読の有無 無
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 Tateishi Kensuke, Nakamura Taishi, Juratli Tareq A et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 PI3K/AKT/mTOR Pathway Alterations Promote Malignant Progression and Xenograft Formation in Oligodendroglial Tumors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 4375 ~ 4387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-18-4144	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 該当する

1. 著者名 Tateishi Kensuke, Nakamura Taishi, Yamamoto Tetsuya	4. 巻 36
2. 論文標題 Molecular genetics and therapeutic targets of pediatric low-grade gliomas	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 74 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10014-019-00340-3	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 Nakamura Taishi, Fukuoka Kohei, Nakano Yoshiko, Yamasaki Kai, Matsushita Yuko, Yamashita Satoshi, Ikeda Junji, Udaka Naoko, Tanoshima Reo, Shiba Norio, Tateishi Kensuke, Yamanaka Shoji, Yamamoto Tetsuya, Hirato Junko, Ichimura Koichi	4. 巻 110
2. 論文標題 Genome wide DNA methylation profiling shows molecular heterogeneity of anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 828 ~ 832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13903	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 Gupta Mihir, AUTHORS, Tateishi Kensuke, Lennerz Jochen K., Dietrich Jorg, Cahill Daniel P., Carter Bob S., Shankar Ganesh M.	4. 巻 138
2. 論文標題 A rapid genotyping panel for detection of primary central nervous system lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 382 ~ 386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood.2020010137	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 該当する

1. 著者名 Tateishi Kensuke, Miyake Yohei, Nakamura Taishi, Yamamoto Tetsuya	4. 巻 38
2. 論文標題 Primary central nervous system lymphoma: clinicopathological and genomic insights for therapeutic development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 173 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10014-021-00408-z	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 立石 健祐	4. 巻 49
2. 論文標題 特集 グリオーマ-現在の常識と近未来のスタンダード 知っておくべきグリオーマの生物学的基礎知識 グリオーマの細胞生物学	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurological Surgery 脳神経外科	6. 最初と最後の頁 476 ~ 484
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1436204419	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 Miyake Yohei, Fujii Keita, Nakamura Taishi, Ikegaya Naoki, Matsushita Yuko, Gobayashi Yuko, Iwashita Hiromichi, Uda Naoko, Kumagai Jiro, Murata Hidetoshi, Takemoto Yasunori, Yamanaka Shoji, Ichimura Koichi, Tateishi Kensuke, Yamamoto Tetsuya	4. 巻 80
2. 論文標題 IDH-Mutant Astrocytoma With Chromosome 19q13 Deletion Manifesting as an Oligodendroglioma-Like Morphology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 247 ~ 253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlaa161	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 Miller Julie J, Fink Alexandria, Banagis Jack A, Nagashima Hiroaki, Subramanian Megha, Lee Christine K, Melamed Lisa, Tummala Shilpa S, Tateishi Kensuke, Wakimoto Hiroaki, Cahill Daniel P	4. 巻 23
2. 論文標題 Sirtuin activation targets IDH-mutant tumors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology	6. 最初と最後の頁 53 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/neuonc/noaa180	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 該当する

1. 著者名 Natsumeda Manabu, AUTHORS, Tateishi Kensuke, Yamamoto Tetsuya, Rodriguez Fausto J, Takahashi Hitoshi, Hovestadt Volker, Suva Mario L, Taylor Michael D, Eberhart Charles G, Fujii Yukihiko, Kakita Akiyoshi	4. 巻 80
2. 論文標題 GLI3?Is Associated With Neuronal Differentiation in SHH-Activated and WNT-Activated Medulloblastoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 129 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlaa141	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 該当する

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 立石健祐, 三宅勇平, 河津正人, 佐々木重嘉, 笹目丈, 吉井幸恵, 脇本浩明, 永根基雄, 市村幸一, 山本哲哉
2. 発表標題 独自のモデルを通じた中枢神経原発悪性リンパ腫の進展機序同定と治療標的の解明.
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会学術総会 (シンポジウム)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 立石健祐
2. 発表標題 脳腫瘍治療の現在と未来展望
3. 学会等名 第79回日本脳神経外科学会学術総会 Green Project (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 立石健祐, 三宅勇平, 河津正人, 佐々木重嘉, 吉井幸恵, 笹目丈, 永根基雄, 市村幸一
2. 発表標題 -kB経路の活性化はPCNSLの中樞神経浸潤を促進させる
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍病理学会 (シンポジウム),
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 立石健祐, 山本哲哉
2. 発表標題 研究成果がもたらす脳腫瘍分生物学の進展と課題
3. 学会等名 第40回日本脳神経外科コンgres (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 立石健祐, 佐々木重嘉, 河津正人, 三宅勇平, 中村大志, 吉井幸恵, 松下裕子, 山中正二, 山本哲哉, 脇本浩明, 永根基雄, 市村幸一
2. 発表標題 ヒト由来中枢神経原発悪性リンパ腫細胞株を用いた腫瘍発生進展機構の解明、治療法探求のためのトランスレーショナル研究
3. 学会等名 第37回日本脳腫瘍学会学術総会 (シンポジウム, Top Scoring Abstract)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tateishi K, Nakamura T, Juratli TA, Miyake S, Yamanaka S, Yamamoto T, Ichimura K, Wakimoto H, Cahill DP
2. 発表標題 PI3 kinase pathway alterations promote tumor progression and xenograft formation in oligodendroglial tumors
3. 学会等名 ASNO meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立石健祐, 三宅茂太, 三宅勇平, 笹目丈, 中村大志, 山本哲哉
2. 発表標題 ヒト由来脳腫瘍細胞株を用いた前臨床研究-多施設共同研究の進捗状況について
3. 学会等名 神奈川脳神経外科懇話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立石健祐, 三宅勇平, 中村大志, 笹目丈, 大島聡人, 本間博邦, 池谷直樹, 末永潤, 村田英俊, 山本哲哉
2. 発表標題 悪性脳腫瘍に対する橋渡し研究のためのプラットフォーム構築
3. 学会等名 第39回日本脳腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石健祐, 三宅勇平, 中村大志, 笹目丈, 大島聡人, 本間博邦, 池谷直樹, 末永潤, 村田英俊, 山本哲哉
2. 発表標題 悪性脳腫瘍に対する橋渡し研究のためのプラットフォーム構築
3. 学会等名 第80回日本脳神経外科学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石健祐
2. 発表標題 中枢神経原発悪性リンパ腫の病態と遺伝子異常.
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会 (臓器別シンポジウム)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石健祐, 三宅勇平, 中村大志, 笹目丈, 林貴啓, 大島聡人, 本間博邦, 池谷直樹, 末永潤, 村田英俊, 山本哲哉
2. 発表標題 悪性脳腫瘍に対する橋渡し研究のためのプラットフォーム構築.
3. 学会等名 第80回日本脳神経外科学会学術総会 (シンポジウム)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石健祐, 三宅勇平, 本間博邦, 河津正人, 佐々木重嘉, 吉井幸恵, 脇本浩明, 永根基雄, 市村幸一, 山本哲哉
2. 発表標題 トランスレーショナルアプローチにて見えた中枢神経原発悪性リンパ腫の進展機序と治療標的.
3. 学会等名 第21回分子脳神経外科学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石健祐
2. 発表標題 BRAF変異脳腫瘍の臨床像と分子標的治療の展望.
3. 学会等名 第62回日本神経病理学会学術総会 (ワークショップ)
4. 発表年 2021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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------