

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：82504

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09338

研究課題名(和文) MYCファミリー遺伝子を標的にした膠芽腫に対する革新的治療法の開発

研究課題名(英文) Development of innovative treatment for glioblastoma targeting MYC family genes

研究代表者

瀬戸口 大毅 (Setoguchi, Taiki)

千葉県がんセンター(研究所)・脳神経外科・医長

研究者番号：90869926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：膠芽腫細胞株U87MGと、患者由来膠芽腫細胞株B367両者に対し、薬剤スクリーニングを行い、候補薬としてMonensinを選定した。U87MGへのMonensin添加によりp53とその標的遺伝子であるPIDDやMDM2の発現が誘導された。また、Caspase2の切断が誘発されており、p53/PIDD/Caspase2の正のフィードバックループの活性化が示唆された。さらに、サイクリンB1とリン酸化サイクリンB1が誘導されており、Monensinにより分裂期細胞死を起こした可能性が示唆された。MYC下流遺伝子をターゲットにした薬剤が膠芽腫の新規薬の候補となる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膠芽腫に対してはtemozoromideやbevacizumabが治療薬として使用されるが選択肢は狭く、新規治療薬の開発が望まれている。膠芽腫の増大、浸潤にはMYC/NCYMが関与している可能性が示唆されており、MYC/NCYM関連遺伝子をターゲットすることで腫瘍を抑制できる可能性がある。今回選定したMonensinは、temozoromideや他癌腫で用いられるCrizotinibなどに比し高い腫瘍抑制効果を認めた。MYC下流遺伝子をターゲットにした薬剤が膠芽腫の新規薬の候補となる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Monensin was selected as a candidate drug after drug screening of both the glioblastoma cell line U87MG and the patient-derived glioblastoma cell line B367. p53 and its target genes, PIDD and MDM2, were induced by the addition of monensin to U87MG. It also induced cleavage of Caspase2, suggesting activation of the p53/PIDD/Caspase2 positive feedback loop. Furthermore, cyclin B1 and phosphorylated cyclin B1 were induced, suggesting that monensin may have caused mitotic cell death, suggesting that drugs targeting MYC downstream genes may be candidates for novel drugs for glioblastoma.

研究分野：Malignant brain tumors

キーワード：glioblastoma MYC Monensin

1. 研究開始当初の背景

膠芽腫は最も頻度の高い原発性悪性脳腫瘍である。手術、放射線治療、化学療法などの集学的治療が施行されるが、再発は不可避であり、生存期間中央値は 20 ヶ月と短い。治療薬テモゾロミド (TMZ) に対して、薬剤耐性を獲得することが再発の一因であり、TMZ 耐性の膠芽腫に対する新たな治療法の創出が強く望まれている。

これまでに我々は TMZ ががん抑制遺伝子 TAp63 を活性化し、がん遺伝子 MYC の発現を抑制することで、膠芽腫の細胞浸潤を阻害すること、TMZ 治療後に MYC 発現量が低下した膠芽腫は予後良好であることを示してきた (Yamaki et al, Sci Rep. 2013)。

MYCN のアンチセンス遺伝子 NCYM はヒトとチンパンジーのみタンパク質をコードし、MYCN と結合することで安定化する (Suenaga et al, PLoS Genetics 2014)。また、NCYM は細胞分裂期において MYC および MYCN の制御を介して、紡錘糸の構成要素である tubulin- α の安定化し、アポトーシスを抑制する。これらの結果は NCYM が MYC および MYCN を制御することでがん進展に寄与することを示しているが、膠芽腫における NCYM の機能は不明であった。TCGA のデータベースによる予備解析により NCYM の発現量は膠芽腫の 4 つのサブタイプ (Proneural, Neural, Classical, Mesenchymal) のうち TMZ 増量による生存率の向上がない Proneural タイプで高く、膠芽腫における TAp63 下流遺伝子およびアポトーシス関連遺伝子と逆相関した。これらの結果から、NCYM が膠芽腫の悪性化に寄与する可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

スクリーニングにより同定した MYC/NCYM 関連化合物の膠芽腫への作用を検証する

3. 研究の方法

膠芽腫細胞株 U87MG 及び患者由来膠芽腫細胞株 B367 に薬剤スクリーニングを施し、両者に効果のみられた 23 化合物のうち Monensin を選定。Monensin を B367 及び U87MG に添加 (100nM 6 日間処置) し、Crizotinib や MYC 関連化合物 JQ1 と比較。また、Monensin を U87MG に添加 (3 種の濃度で 6h 処理) し、Western blotting を行った。

4. 研究成果

Monensin は B367 及び U87MG 両者において、JQ1 や Crizotinib よりも腫瘍抑制効果を認めた (図 1)。

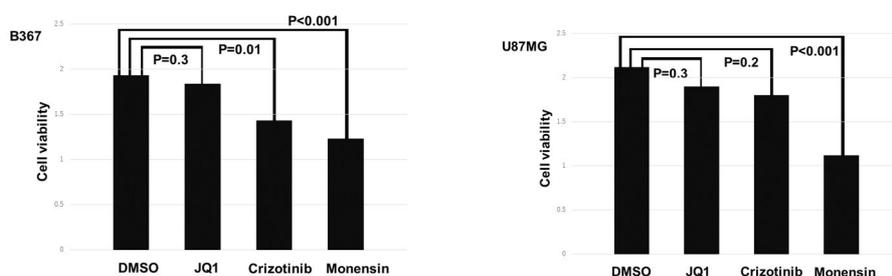


図 1 B367 及び U87MG に対し JQ1、Crizotinib、Monensin をそれぞれ 100nM で添加し、6 日間インキュベーターで保温。吸光度測定を行った

また、Monensin を U87MG に添加すると、MYC の発現が上昇、p53 とその標的遺伝子である PIDD および MDM2 の発現が誘導され、それらの切断も見られた (図 2 a)。また、Monensin 処理によって Caspase2 の切断が誘発されていた (図 2 b)。さらに、サイクリン B1 とリン酸化サイクリン B1 が誘導されていた (図 2 c)。Monensin により p53/PIDD/Caspase2 の正のフィードバックループの活性化し、分裂期細胞死を起こした可能性が示唆された。Monensin など MYC 下流遺伝子に作用する薬剤が、膠芽腫の新規治療薬の可能性があると考えられた。

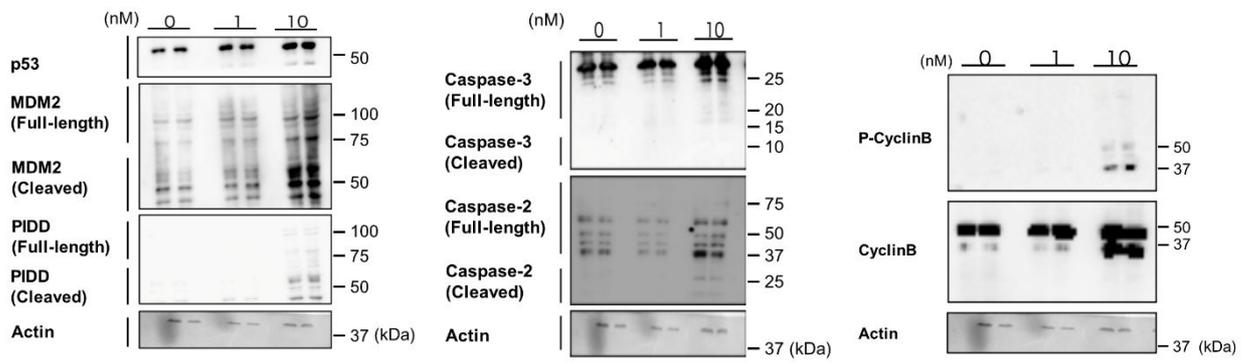


図 2 a

b

c

図 2 U87MG 対し、10nM,1nM,0nM(溶解液のみ)を 6 時間添加し、Westernblotting を行った。それぞれ duplicate 検証。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 瀬戸口大毅
2. 発表標題 Monensin-induced glioblastoma cell death via activation of the p53/PI3K/Caspase 2 pathway
3. 学会等名 第80回癌学会
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
研究分担者	筆宝 義隆 (Hippo Yoshitaka) (30359632)	千葉県がんセンター(研究所)・発がん制御研究部・研究所長 (82504)	
研究分担者	井内 俊彦 (Iuchi Toshihiko) (80370881)	千葉県がんセンター(研究所)・脳神経外科・部長 (82504)	
研究分担者	末永 雄介 (Suenaga Yusuke) (80581793)	千葉県がんセンター(研究所)・発がん研究グループ 発がん制御研究部・研究員 (82504)	

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
---------	---------