

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 3 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462188

研究課題名(和文) 悪性神経膠腫に対する抗てんかん薬を中心とする新規併用療法の開発と臨床応用

研究課題名(英文) Tumor-Inhibition Effect of Levetiracetam in Combination with Temozolomide in Glioblastoma Cells

研究代表者

中瀬 裕之(Nakase, Hiroyuki)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：10217739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)： 膠芽腫(GBM) に対しては術後のtemozolomide(TMZ)+放射線治療(RT)が標準治療であるが、未だ満足はいく治療成績は得られておらず、著者らは「膠芽腫に対する TMZ 抗腫瘍効果を増強する新規併用療法の開発」を継続して行ってきた。

本研究の目的は、GBM 細胞株に対するTMZ と新規抗てんかん薬である levetiracetam (LEV) の併用投与による抗腫瘍効果の有用性を評価することである。  
GBM 細胞株においては、TMZ とLEVの併用投与を行うことで、細胞増殖抑制やpremature senescenceの誘導による抗腫瘍効果を増強することが示唆された。

研究成果の概要(英文)： Glioblastoma (GBM) is a malignant brain tumor with a poor prognosis. The standard postoperative chemotherapy is temozolomide (TMZ), which does not greatly improve survival. Antiepileptic drug levetiracetam (LEV) is commonly prescribed, but the therapeutic advantages of the LEV and TMZ combination remain poorly understood.

We evaluated cell proliferation and premature senescence after single and combined treatments of TMZ and LEV in several GBM cell lines that differ in TMZ sensitivity. Both LEV and TMZ reduced cell proliferation in a dose-dependent manner in A172 cells. A senescent-like phenotype was induced by both TMZ and LEV. Overall, there was a greater effect following combined treatment compared to the monotherapy groups. Thus, LEV appears to have a tumor-suppressive effect and induces cellular senescence, and combined treatment of LEV and TMZ enhanced these effects. LEV use in GBM treatment may allow for reduction of the TMZ dose to enhance the clinical efficacy of TMZ.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：glioblastoma levetiracetam temozolomide premature senescence

## 1. 研究開始当初の背景

膠芽腫をはじめ多くの神経膠腫は抗癌剤や放射線治療 (RT) に抵抗性で長年有効な治療法の確立には至らなかったが、temozolomide (TMZ) 投与による有意な全生存期間(OS)および無増悪生存期間(PFS)の延長が報告され、腫瘍摘出術後の RT および TMZ 投与が標準治療となっている。しかし、TMZ をはじめとするアルキル化剤は O6-methylguanine-methyltransferase(O6-MGMT)O6-MGMT によって効果が減弱されるため、O6-MGMT の状態に応じて O6-MGMT の不活化など、TMZ の効果を増強する治療法の開発が必要である。

## 2. 研究の目的

「TMZ 感受性増強の基礎的研究」として、併用薬を用いることによる TMZ 治療効果への影響を膠芽腫細胞株で解析する。次に、臨床応用するべく「有害事象の少ない TMZ との併用療法」として特に抗てんかん薬に着目し、前向き臨床試験を申請することも最終目的とする。

## 3. 研究の方法

- 1) 遺伝子背景の異なる膠芽腫細胞株に対して TMZ 単剤投与と、各併用療法を施行した場合の抗腫瘍効果のメカニズムの違いを細胞株の genotype ごとに解析する。
- 2) 手術摘出された悪性神経膠腫組織標本における薬剤感受性に係わる遺伝子変異の検索を行い、各治療法の抗腫瘍効果との相関を検索する。これらの結果をもとに「TMZ の抗腫瘍効果を増強する有害事象の少ない新規併用療法」として臨床試験を申請する。

## 4. 研究成果

TMZ と LEV 併用による効果では GBM 細胞株

A172 において、TMZ と LEV の併用投与群は単独投与群と比較して、容量依存性に細胞増殖がより抑制された。また、GBM 細胞株 A172 と GBM 細胞株 T98 とともに TMZ と LEV の併用投与群は単独投与群と比較して、細胞老化特異的ガラクトシダーゼ酵素活性を示し、不可逆的な細胞増殖が停止しやすいことを見出した。

更に、後ろ向き観察研究ではあるが、膠芽腫 60 症例において LEV 併用症例では遺伝子背景に関わらず有意に生存期間が延長することも見出した。上記の基礎実験データと後ろ向き観察研究のデータをもとに臨床試験の申請の準備を進めている。

## 5. 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

〔雑誌論文〕(計 8 件)

- 1) Marutani A, Nakamura M, Matsuda R, Nishimura F, Nakazawa T, Motoyama Y, Nakase H (14 名中 14 番): Tumor-inhibition effect of levetiracetam in combination with temozolomide in glioblastoma cells. *Neurochem J* 2017 査読有
- 2) Nakazawa T, Nakamura M, Matsuda R, Nishimura F, Motoyama Y, Nakase H (18 名中 18 番): The third generation nitrogen-containing bisphosphonate Minodronate exerts antitumor effects against human glioblastoma in cooperation with T cells *in vitro* and *in vivo*. *J Neurooncol* 129: 231-41, 2016 査読有
- 3) Motoyama Y, Nakase H (6 名中 6 番): Indocyanine Green (ICG) Videoangiography-Guided Dissection of the Sylvian fissure on the

- transylvian approach: Technical Note. *World Neurosurg* 87: 45-7, 2016 査読有
- 4) Nakase H. (3 名中 1 番), Motoyama Y: Cerebral hemorrhage. *Nihon Rinsho* 74: 671-6, 2016 査読無
- 5) Matsuda R, Nakamura M, Nishimura F, Motoyama Y, Nakase H. (9 名中 9 番): Current topics of implantation of BCNU Wafers for the treatment of malignant glioma. *Jpn J Neurosurg* in press 査読無
- 6) Nakagawa I, Motoyama Y, Nakase H (9 名中 9 番): Influence of diabetes mellitus and cigarette smoking on variability of the clopidogrel-induced antiplatelet effect and efficacy of active management of the target P2Y12 reaction unit range in patients undergoing neurointerventional procedures. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 25: 163-71, 2016 査読有
- 7) Yamada S, Nakase H. (9 名中 8 番): Diagnosing intra-cranial and cervical artery dissection using MRI as the initial modality. *J Clin Neurosci* 33:177-81 2016 査読有
- 8) 松田良介, 中瀬裕之 (8 名中 8 番目): BCNU wafer カレントトピックス. *脳神経外科ジャーナル*. 25(11):889-894. 2016. 査読有
- [学会発表](計 5 件)
- 1) 頭蓋頸椎移行部病変に対する外科的治療、Skill-building Neurosurgical Conference、講演、2016.06.04、札幌
- 2) A guide to the safe and successful neurosurgical management to deep-seated AVMs、The 13th Japan-Korea Joint Conference on Surgery for Cerebral Stroke (JKJC 2016)、2016.09.22~24、釜山
- 3) Neurosurgical management and outcomes of the craniovertebral junction(CVJ) tumors、12th Congress of the European Skull Base Society、2016.05.26~28、Berlin
- 4) Surgical strategy to the cranio-vertebral junction (CVJ) tumors、7th International Congress of Skull Base Societies、2016.06.14~17、大阪
- 5) Comprehensive neurosurgical management for hemangioblastomas in the posterior fossa、The 7th Japan-india Neurosurgical Conference、2016.06.18、大阪
- [図書](計 4 件)
- 1) 脳静脈・静脈洞閉塞症、中川一郎、中瀬裕之、EBM に基づく脳神経疾患の基本治療指針、株式会社メディカルビュー社、51-53、2016
- 2) 硬膜動静脈瘻の開頭手術 横静脈洞部、中川一郎、中瀬裕之、脳静脈エッセンス 脳静脈の歩き方、株式会社中外医学社(東京)、163-169、2016
- 3) 脳出血、中瀬裕之、本山靖、山田修一、*日本臨床*、74(4)、671-676、2016
- 4) 海綿状血管腫と静脈性血管腫、中瀬裕之、*Clinical Neuroscience*、34(4)、460-461、2016

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

中瀬 裕之 ( NAKASE,Hiroyuku )  
奈良県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号 : 10217739

### (2)研究分担者

本山 靖 ( MOTOYAMA,Yasushi )  
奈良県立医科大学・医学部・准教授  
研究者番号 : 30405386

松田 良介 ( MATSUDA,Ryosuke )  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号 : 60453164

田村 健太郎 ( TAMURA,Kentaro )  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号 : 00423913

竹島 靖浩 ( TAKESHIMA,Yasuhiro )  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号 : 60510203