

令和元年6月17日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04946

研究課題名（和文）グリオブラストーマ根治を目指すグリオーマ幹細胞研究総合戦略PART2

研究課題名（英文）A systematic approach to achieving glioblastoma cure via targeting glioma stem cells: PART2

研究代表者

北中 千史（KITANAKA, CHIFUMI）

山形大学・医学部・教授

研究者番号：70260320

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題ではこれまでのグリオーマ幹細胞研究に関する成果をさらに発展させ臨床応用へと進めるため、メトホルミンの効果をも高める薬剤の探索や、ドラッグリポジショニングの手法によりがん幹細胞に有効なJNK阻害薬の探索を行った。その結果ヒトへの安全性が確認されたJNK阻害薬AS602801やCEP-1347がグリオーマ幹細胞に有効であることを見出した。さらには、予想外の結果として、グリオーマ幹細胞に対して選択的殺傷能をもつ薬剤を見出すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん（悪性新生物）は長年にわたり我が国の死亡原因圧倒的の第1位を維持しており、がんの克服は国家的にも重要な課題である。本課題はがんの再発・転移の主要因と考えられているがん幹細胞に着目し、そのがん幹細胞に作用することで再発・転移を防ぎがん根治が期待できるがん幹細胞治療薬開発を目指そうとする課題である。本課題ではすでにヒトへの安全性が確認されている薬剤の中からがん幹細胞に有効な薬剤を見出し、しかもその効果を前臨床試験レベルで確認済みであるなど、がん根治薬の臨床応用に向けて大きな一歩となりうる成果を挙げた。

研究成果の概要（英文）：In this project, to further advance to clinical application the achievements attained in our previous studies on glioma stem cells, we searched for drugs that can enhance the effect of metformin and, through the drug repurposing strategy, JNK inhibitors that are effective against cancer stem cells. As a result, we identified AS602801 and CEP-1347 as such JNK inhibitors with known safety profiles in humans. Moreover, we have unexpectedly succeeded in identifying a drug that has selective cytotoxicity against glioma stem cells.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：グリオブラストーマ

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

1. 研究開始当初の背景

がん幹細胞は腫瘍細胞の「ごく一部に相当する小集団」であるが治療抵抗性と腫瘍形成能を併せ持つため治療後再発の原因となり、「がんの治療を阻む最大要因」と考えられる。従ってヒトがんの中でも難治を極めるグリオブラストーマの「根治」を実現するうえで、グリオーマ幹細胞の制御はそのカギを握る重要なプロセスになるものと期待される。

これに対して我々はこれまでの研究の中でグリオーマ幹細胞と非幹細胞間で発現や活性の異なる分子を探索することでグリオーマ幹細胞維持に関わる分子の同定を試みた。その結果、JNK 活性が幹細胞で高まっていること、さらには JNK 活性がグリオーマ幹細胞維持に必須であることを明らかにし、前臨床研究を経て JNK 阻害薬のグリオーマ幹細胞標的治療薬として有用性を示した。一方我々は別プロジェクトにおいて糖尿病薬メトホルミンがグリオーマ幹細胞標的治療薬として有用であることも明らかにしている。

このような「臨床応用に限りなく近いグリオーマ幹細胞治療薬候補」としてのメトホルミンや JNK 阻害薬の世界に先駆けた発見はグリオーマ幹細胞研究上の大きなブレイクスルーとなったが、これを受けて今後の我々の研究に「これらの成果をいかにして有効・安全かつ迅速に実臨床にフィードバックするか」という重要なテーマが加わった。

2. 研究の目的

上記「背景」に記載の如く、メトホルミン(糖代謝標的薬)や JNK 阻害薬を基軸とし、有効・安全で実臨床に応用可能な治療戦略を開発することを本研究課題の目的とした。

3. 研究の方法

実験には患者腫瘍組織に直接由来するグリオーマ幹細胞を用いた。幹細胞マーカーや分化マーカー等の発現についてはウエスタンブロット法、フローサイトメトリー等の方法により検討した。自己複製能を評価するためスフィア形成アッセイを行った。がん幹細胞の腫瘍形成能はヌードマウス皮下ないし頭蓋内に細胞を移植し、皮下移植の場合は腫瘍の有無、形成された腫瘍の体積を経時的にモニターし、頭蓋内移植の場合は生存解析を行うことにより評価を行った。

4. 研究成果

本課題では以下の如く、特に JNK 阻害薬に関連して顕著な成果を得ることができた。

JNK 阻害薬の臨床応用を加速するためドラッグリポジショニングの発想に基づいてグリオーマ幹細胞を標的とする新たな JNK 阻害薬の開発に取り組んだ結果、子宮内膜症の治療薬として開発されすでに臨床試験でヒトへの安全性に関する情報が存在する JNK 阻害薬 AS602801 ががん幹細胞標的治療薬として有望であることを明らかにした。すなわち我々は AS602801 が *in vitro* ではがん幹細胞の幹細胞マーカー発現やスフィア形成能を抑制するなど自己複製能抑制効果を有していることを確認するとともに、*in vivo* においては担がん動物への AS602801 全身投与により腫瘍中のがん幹細胞が低減されることすなわち AS602801 のがん幹細胞治療効果を確認し、その成果を論文として公表した。

また、同様のアプローチによりパーキンソン病治療薬候補として臨床試験が行われヒトへの安全性が確認されている JNK 経路阻害薬 CEP-1347 がグリオーマ幹細胞標的治療薬として有望であることを明らかとし、こちらも成果を論文として公表した。

尚、JNK 阻害薬探索の過程で我々は偶然グリオーマ幹細胞に特異的脆弱性(=アキレス腱)が存在することを発見・報告し、この新規概念に基づいた薬剤スクリーニングから、グリオーマ幹細胞特異的殺傷効果を示す新規薬剤を同定することに成功した。グリオーマ幹細胞に対して殺細胞効果をもつ薬剤は JNK 阻害薬やメトホルミン等の分化誘導薬との併用によりグリオーマ幹細胞治療効果を高める可能性が考えられるため、本研究課題が目標とするグリオブラストーマ根治に向け大きな貢献が期待できる成果となった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 1 件)

- 1) Suzuki S, Yamamoto M, Togashi K, Sanomachi T, Sugai A, Seino S, Yoshioka T, Kitanaka C, Okada M: In vitro and in vivo anti-tumor effects of brexpiprazole, a newly-developed serotonin-dopamine activity modulator with an improved safety profile. *Oncotarget* in press. (査読有)
- 2) Yamamoto M, Suzuki S, Togashi K, Sanomachi T, Seino S, Kitanaka C, Okada M: As602801 sensitizes ovarian cancer cells to paclitaxel by down-regulating MDR1. *Anticancer Research* 2019;39(2):609-617. doi:10.21873/anticancerres.13154. (査読有)

- 3) Togashi K, Okada M, Yamamoto M, Suzuki S, Sanomachi T, Seino S, Yamashita H, Kitanaka C: A Small-molecule Kinase Inhibitor, CEP-1347, Inhibits Survivin Expression and Sensitizes Ovarian Cancer Stem Cells to Paclitaxel. *Anticancer Research* 2018;38(8):4535-4542. (査読有) doi: 10.21873/anticancerres.12757.
- 4) Kuramoto K, Yamamoto M, Suzuki S, Sanomachi T, Togashi K, Seino S, Kitanaka C, Okada M: AS602801, an Anti-Cancer Stem Cell Drug Candidate, Suppresses Gap-junction Communication Between Lung Cancer Stem Cells and Astrocytes. *Anticancer Research* 2018;38(9):5093-5099. (査読有) doi: 10.21873/anticancerres.12829.
- 5) Suzuki S, Okada M, Takeda H, Kuramoto K, Sanomachi T, Togashi K, Seino S, Yamamoto M, Yoshioka T, Kitanaka C: Involvement of GLUT1-mediated glucose transport and metabolism in gefitinib resistance of non-small-cell lung cancer cells. *Oncotarget*. 2018;24;9(66):32667-32679. doi: 10.18632/oncotarget.25994. (査読有)
- 6) Yamamoto M, Suzuki S, Togashi K, Sanomachi T, Seino S, Kitanaka C, Okada M: AS602801, an anticancer stem cell candidate drug, reduces surviving expression and sensitizes A2780 ovarian cancer stem cells to carboplatin and paclitaxel. *Anticancer Research* 2018;38(12):6699-6706. doi: 10.21873/anticancerres.13038. (査読有)
- 7) 北中千史 : グリオーマ幹細胞. *脳神経外科ジャーナル* 2018;27(10):744-751. doi.org/10.7887/jcns.27.744. (査読有)
- 8) Okada M, Takeda H, Sakaki H, Kuramoto K, Suzuki S, Sanomachi T, Togashi K, Seino S, Kitanaka C: Repositioning CEP-1347, a chemical agent originally developed for the treatment of Parkinson's disease, as an anti-cancer stem cell drug. *Oncotarget*. 2017; 8(55):94872-94882. (査読有) doi: 10.18632/oncotarget.22033.
- 9) Takeda H, Okada M, Kuramoto K, Suzuki S, Sakaki H, Sanomachi T, Seino S, Yoshioka T, Hirano H, Arita K, Kitanaka C: Antitumor activity of gemcitabine against high-grade meningioma in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2017; 8(53):90996-91008. (査読有) doi: 10.18632/oncotarget.18827.
- 10) Sanomachi T, Suzuki S, Kuramoto K, Takeda H, Sakaki H, Togashi K, Seino S, Yoshioka T*, Okada M, Kitanaka C: Olanzapine, an Atypical Antipsychotic, Inhibits Survivin Expression and Sensitizes Cancer Cells to Chemotherapeutic Agents. *Anticancer Research* 2017; 37(11):6177-6188. (査読有)
- 11) Kuramoto K, Suzuki S, Sakaki H, Takeda H, Sanomachi T, Seino S, Narita Y, Kayama T, Kitanaka C, Okada M: Licochalcone A specifically induces cell death in glioma stem cells via mitochondrial dysfunction. *FEBS Open Biology*. 2017; 7(6):835-844. (査読有) doi: 10.1002/2211-5463.12226.
- 12) Takeda H, Okada M, Suzuki S, Kuramoto K, Sakaki H, Watarai H, Sanomachi T, Seino S, Yoshioka T, Kitanaka C: Rho-Associated Protein Kinase (ROCK) Inhibitors Inhibit Survivin Expression and Sensitize Pancreatic Cancer Stem Cells to Gemcitabine. *Anticancer Research* 2016;36:6311-6318. (査読有)
- 13) Watarai H, Okada M, Kuramoto K, Takeda H, Sakaki H, Suzuki S, Seino S, Oizumi H, Sadahiro M, Kitanaka C: Impact of H3K27 Demethylase Inhibitor GSKJ4 on NSCLC Cells Alone and in Combination with Metformin. *Anticancer Research* 2016;36:6083-6092. (査読有)
- 14) Suzuki S, Okada M, Kuramoto K, Takeda H, Sakaki H, Watarai H, Sanomachi T, Seino S, Yoshioka T, Kitanaka C: Aripiprazole, an Antipsychotic and Partial Dopamine Agonist, Inhibits Cancer Stem Cells and Reverses Chemoresistance. *Anticancer Research* 2016;36:5153-5161. (査読有)
- 15) Okada M, Kuramoto K, Takeda H, Watarai H, Sakaki H, Seino S, Seino M, Suzuki S, Kitanaka C: The novel JNK inhibitor AS602801 inhibits cancer stem cells in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2016;7(19):27021-27032. doi:10.18632/oncotarget.8395. (査読有)
- 16) Seino M, Okada M, Sakaki H, Takeda H, Watarai H, Suzuki S, Seino S, Kuramoto K, Ohta T, Nagase S, Kurachi H, Kitanaka C: Time-staggered inhibition of JNK effectively sensitizes chemoresistant ovarian cancer cells to cisplatin and paclitaxel. *Oncology Reports* 2016;35(1):593-601 doi:10.3892/or.2015.4377. (査読有)
- 17) Sakaki H, Okada M, Kuramoto K, Takeda H, Watarai H, Suzuki S, Seino S, Seino M, Ohta T, Nagase S, Kurachi H, Kitanaka C: GSKJ4, A Selective Jumonji H3K27 Demethylase Inhibitor, Effectively Targets Ovarian Cancer Stem Cells. *Anticancer Research* 2015;35(12):6607-6614. (査読有)
- 18) Seino M, Okada M, Shibuya K, Seino S, Suzuki S, Takeda H, Ohta T, Kurachi H, Kitanaka C: Differential contribution of ROS to resveratrol-induced cell death and loss of self-renewal capacity of ovarian cancer stem cells. *Anticancer Research* 2015;35(1):85-96. (査読有)

- 19) Shibuya K, Okada M, Suzuki S, Seino M, Seino S, Takeda H, Kitanaka C: Targeting the facilitative glucose transporter GLUT1 inhibits the self-renewal and tumor-initiating capacity of cancer stem cells. *Oncotarget* 2015;6(2):651-661. (査読有)
- 20) Suzuki S, Okada M, Shibuya K, Seino M, Sato A, Takeda H, Seino S, Yoshioka T, Kitanaka C: JNK suppression of chemotherapeutic agents-induced ROS confers chemoresistance on pancreatic cancer stem cells. *Oncotarget* 2015;6(1):458-470. (査読有)
- 21) 北中千史: グリオーマ幹細胞. *脳神経外科ジャーナル* 2015;24:358-365. (査読有)

〔学会発表〕(計 11 件)

- 1) 鈴木修平, 岡田雅司, 吉岡孝志, 北中千史: 部分的ドパミン受容体アゴニストであるアリピプラゾールは癌幹細胞への抗腫瘍効果を示し、薬剤抵抗性を減弱させる. 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪; 2018 年 9 月 27 日
- 2) 岡田雅司, 鈴木修平, 倉元謙太, 武田弘幸, 北中千史: がん幹細胞における JNK 経路の機能解析. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 神戸 (神戸国際会議場); 2017 年 12 月 6 日
- 3) 北中千史: 悪性グリオーマの新規治療戦略, 第 76 回日本癌学会学術総会, 横浜 (パシフィコ横浜); 2017 年 9 月 30 日
- 4) 岡田雅司, 鈴木修平, 清野学, 武田弘幸, 北中千史: 新規 JNK 阻害薬である AS602801 はがん幹細胞を抑制する. 第 76 回日本癌学会学術総会, 横浜 (パシフィコ横浜); 2017 年 9 月 28 日
- 5) 北中千史: グリオーマ幹細胞. 第 37 回コンgres総会, 横浜; 2017 年 5 月 11 日
- 6) 岡田雅司, 北中千史: グルコース代謝の抑制はがん幹細胞の幹細胞性維持および腫瘍創始能を抑制する. 第 59 回放射線影響学会, 広島 (JMS アステールプラザ); 2016 年 10 月 27 日
- 7) 岡田雅司, 鈴木修平, 清野学, 武田弘幸, 北中千史: 促進性グルコース輸送体 GLUT1 阻害は癌幹細胞の自己複製能と腫瘍形成能を抑制する. 第 75 回日本癌学会学術総会, 横浜 (パシフィコ横浜); 2016 年 10 月 6 日
- 8) 北中千史: グリオーマ、固形がん幹細胞を標的とする治療法開発を目指したがん幹細胞研究. 第 74 回日本癌学会学術総会, 名古屋 (名古屋国際会議場); 2015 年 10 月 8 日
- 9) 北中千史: 臨床応用を目指したグリオーマ幹細胞研究. 第 5 回栃木ニューロオンコロジー研究会 特別講演, 宇都宮 (宇都宮グランドホテル); 2015 年 7 月 30 日
- 10) 北中千史: 臨床応用を目指したがん幹細胞研究. 第 1 回北里大学悪性脳腫瘍研究会 特別講演, 相模原 (北里大学); 2015 年 5 月 15 日
- 11) 北中千史: 臨床応用を目指したがん幹細胞研究. 第 50 回大分脳腫瘍研究会 特別講演, 大分 (アルメイダ病院研修会館); 2015 年 3 月 14 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: ガン抑制薬及び抗腫瘍剤、腫瘍再発防止剤、腫瘍発生予防剤

発明者: 北中 千史、岡田 雅司

権利者: 山形大学

種類:

番号: KP-15737

出願年: 平成 28 年

国内外の別: 国内

取得状況 (計 1 件)

名称: ガン幹細胞に対する分化促進薬及び脳腫瘍治療薬

発明者: 北中 千史、佐藤 篤、嘉山 孝正、成田 善孝、渋井 壮一郎

権利者: 山形大学、国立がん研究センター

種類:

番号: 特許第 6489517 号

取得年: 平成 31 年

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

URL: <http://www.id.yamagata-u.ac.jp/MolCanSci/index.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者(なし)

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: 岡田 雅司

ローマ字氏名: OKADA MASASHI

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。