

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19724

研究課題名(和文) グリオーマのエピジェネティクス異常に対する転写スイッチ低分子化合物開発の挑戦

研究課題名(英文) Development of low molecular weight compounds switching transcription activity for abnormal epigenetic regulation in glioma

研究代表者

宮本 享 (Miyamoto, Susumu)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：70239440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：コンセンサス配列結合阻害化合物Chb-M'は、alkylating agent-conjugated pyrrole-imidazole polyamidesであり、複数のタイプのグリオーマ細胞株に対して腫瘍増殖抑制を示すことを同定した。増殖抑制メカニズムは、主にアポトーシス誘導であった。mRNAアレイ、リン酸化プロテインアレイを用いて、Chb-M'投与による制御される遺伝子群を同定し、生存シグナルの阻害に至る詳細なメカニズムを同定した。これらの結果から、転写ネットワーク異常を標的にしたChb-M'がグリオーマ治療薬として有望であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性グリオーマは、予後不良の悪性脳腫瘍である。グリオーマ悪性転化に関わるメカニズムを標的にした薬剤の開発を行った。コンセンサス配列結合阻害化合物Chb-M'が、複数のタイプのグリオーマ細胞株でアポトーシス誘導を行い、腫瘍増殖抑制を示した。これらの結果から、Chb-M'がグリオーマ治療薬として有望であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Chb-M', alkylating agent-conjugated consensus sequence binding compound (alkylating agent-conjugated pyrrole-imidazole polyamide) disturbed cell growth of various types of glioma cell lines. Its main mechanism was apoptosis induction. Using mRNA array and phosphorylated protein array, a group of genes controlled by Chb-M' administration was identified, which showed the inhibition of cell survival signal transduction. These results suggest that Chb-M' targeting abnormal transcription network may become a drug for treatment of glioma.

研究分野：脳神経外科

キーワード：グリオーマ RUNX1 悪性転化 Mesenchymal型転換 転写スイッチ 低分子化合物 コンセンサス配列 転写ネットワーク

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

### 1. 研究開始当初の背景

グリオーマが治療困難な要因は、ドライバー遺伝子が起因となる転写ネットワーク異常と腫瘍内多様性 (intratumoral heterogeneity) である。単一の細胞内シグナルを標的とした薬剤では腫瘍内多様性で構成される腫瘍を排除することは不可能である。そこで、腫瘍内多様性の要因となる転写ネットワーク異常を標的とした治療技術に期待がされている。RUNX1 は p53 転写因子であり、core-binding factor subunit (CBF) と複合体形成し、転写活性を示す。急性骨髄性白血病は、RUNX1 のキメラタンパクが転写ネットワーク異常で発生する。グリオーマ Mesenchymal 型転換の転写ネットワーク異常で RUNX1 が関与する (Carro MS. et. Al., Nature, 2010)。そこで、新規開発した RUNX1 転写制御複合体形成を阻害する低分子化合物が p53 正常型白血病細胞及び固形腫瘍には有効であることを確認した。各転写複合体は、主なモジュールを共有し転写制御を行うため、低分子化合物による制御は容易ではなかったが、転写制御複合体のコンセンサス配列結合にする化合物の開発に成功し、コンセンサス配列特異的に結合阻害をすることを確認された。コンセンサス配列付近に結合する化合物の技術を応用することで転写制御複合体のコンセンサス配列結合を標的とした転写制御をスイッチする低分子化合物の合成が可能となった。

### 2. 研究の目的

本研究では、グリオーマの Mesenchymal 型転換に関わる転写ネットワーク異常を標的にした転写スイッチ低分子化合物を開発することを目的とした。Mesenchymal 型転換では、C/EBP の転写モジュールが強力に作用する (Carro, Nature, 2010)。そこで、中分子化合物 RUNX 阻害剤の技術を用いて新たに C/EBP のコンセンサス配列特異的低分子化合物の開発を目指した。

### 3. 研究の方法

グリオーマ細胞株を用いたコンセンサス配列結合阻害化合物の解析

ヒト由来、マウス由来グリオーマ細胞株を用いた増殖、浸潤、悪性形質転換、Mesenchymal 型転換においてコンセンサス配列結合阻害化合物の作用について解析を行う。悪性形質転換の解析には軟寒天コロニー形成アッセイによる足場非依存的増殖を定量する。Mesenchymal 型転換の解析では、グリオーマ幹細胞からの Mesenchymal transition への形質転換を定量する。各実験系における RUNX1 転写阻害による表現型同定に加えて細胞内シグナル、転写ネットワーク改変を同定する。

グリオーマ腫瘍モデルを用いたコンセンサス配列結合阻害化合物の解析

ヒト由来、マウス由来グリオーマ細胞株を用いたマウスモデルにおけるコンセンサス配列結合阻害化合物を用いた実験を行う。早期の臨床応用を念頭において、投与経路による個体での臓器・脳内薬剤分布、各臓器における有害事象探索、腫瘍に対する作用効果を解析する。個体内腫瘍内における RUNX1 阻害に伴う組織学的な解析、細胞内シグナル、転写ネットワークの解析を行い、固体内で生じる腫瘍の変化について同定する。

### 4. 研究成果

コンセンサス配列結合阻害化合物 Chb - M' は、alkylating agent - conjugated pyrrole - imidazole (PI) polyamides であり、RUNX ファミリー制御遺伝子群を包括的に人工的に抑制 (スイッチオフ) が可能であった。ヒト由来グリオーマ細胞株で解析した結果、Chb - M' が、複数のタイプのグリオーマ腫瘍細胞で腫瘍抑制効果を示した (図 1)。腫瘍抑制効果は、主にアポトーシス誘導であった。mRNA アレイ、プロテインアレイ を用いて、Chb - M' 投与による制御される遺伝子群を同定し、さらに、生存シグナルの阻害に至る詳細なメカニズムを同定した。マウスグリオーマモデルにおいての Chb - M' の有効性を評価した。これらの結果、転写ネットワーク異常を標的にした Chb - M' が、グリオーマ治療薬として有望であることが示唆された。

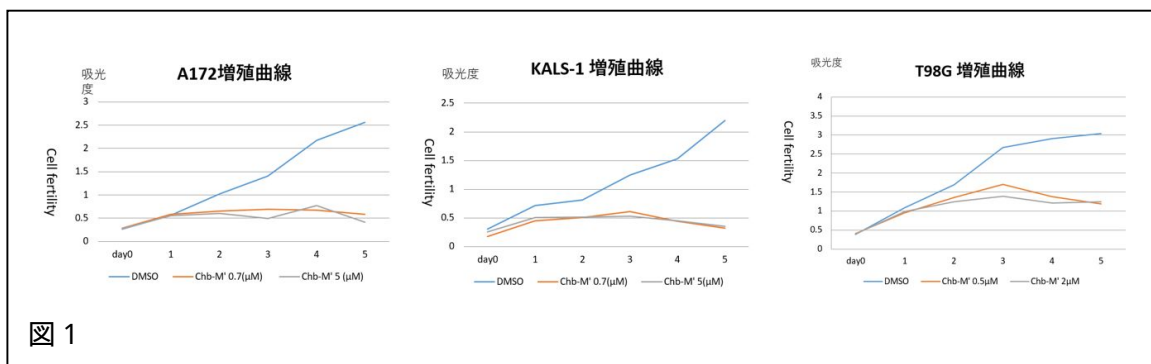


図 1

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Bin Liu, Yoshiki Arakawa, Ryuta Yokogawa, Shinya Tokunaga, Yukinori Terada, Daiki Murata, Yasuzumi Matsui, Ko-ichi Fujimoto, Nobuyuki Fukui, Masahiro Tanji, Yohei Mineharu, Sachiko Minamiguchi, Susumu Miyamoto. PD-1/PD-L1 expression in a series of intracranial germinoma and its association with Foxp3+ and CD8+ infiltrating lymphocytes. PLoS One. 2018 Apr 4;13(4):e0194594. 、 査読有 eCollection 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0194594.
2. Daiki Murata, Yohei Mineharu, Yoshiki Arakawa, Bin Liu, Masahiro Tanji, Makoto Yamaguchi, Ko-ichi Fujimoto, Nobuyuki Fukui, Yukinori Terada, Ryuta Yokogawa, Maki Yamaguchi, Sachiko Minamiguchi, Susumu Miyamoto. High PD-L1 expression associated with CD8+ T cell infiltration and poor prognosis in human medulloblastoma. Journal of Neurosurgery, 128: 710-716, 2017. doi: <https://doi.org/10.3171/2016.11.JNS16991>
3. Tomokazu Aoki, Yoshiki Arakawa, Tetsuya Ueba, Masashi Oda, Namiko Nishida, Yukinori Akiyama, Tetsuya Tsukahara, Koichi Iwasaki, Nobuhiro Mikuni, Susumu Miyamoto. Phase I/II Study of Temozolomide Plus Nimustine Chemotherapy for Recurrent Malignant Gliomas: Kyoto Neuro-oncology Group. Neurologia medico-chirurgica (Tokyo) 57(1): 17-27. 2017  
doi: 10.2176/nmc.oa.2016-0162

〔学会発表〕(計7件)

1. Yoshiki Arakawa, Bin Liu, Yukinori Terada, Yasuzumi Matsui, Etsuko Hattori, Sosuke Sumiyoshi, Nobuyuki Fukui, Masahiro Tanji, Yohei Mineharu, Susumu Miyamoto. HMGA2 is a prognostic factor to induce malignant phenotype in medulloblastoma. 2018 International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology (ISPNO). Poster 2018/7/2 Denver
2. Yoshiki Arakawa, Bin Liu, Masahiro Tanji, Yohei Mineharu, Susumu Miyamoto. High mobility group AT-hook 2 (HMGA2) is a prognostic factor associated with malignant phenotype in medulloblastomas. 23th ANNUAL SCIENTIFIC MEETING AND EDUCATION DAY OF THE SOCIETY FOR NEURO-ONCOLOGY, Poster 2018/11/16, New Orleans
3. Yoshiki Arakawa, Takayuki Yasuda, Yuhikiro Yamao, Masaharu Tanji, Yohei Mineharu, Hiroharu Kataoka, Kazumichi Yoshida, Susumu Miyamoto Future perspectives of endoscopic surgery for intraparenchymal brain tumors The 36th Annual Meeting of the Japan Society for Neuro-Oncology, Symposium, December 3, 2018 Odawara
4. Yoshiki Arakawa, Yoo Kang, Masaharu Tanji, Yohei Mineharu, Kazumichi Yoshida, Yasuhi Takagi, Susumu Miyamoto Indication of endoscopic surgery with advanced technology for intraparenchymal and ventricular tumors, The 76th Annual Meeting of the Japan Neurosurgical Society, Nagoya, Symposium11, 10/12/2017
5. Yoshiki Arakawa, Masaharu Tanji, Yohei Mineharu, Kazumichi Yoshida, Yasuhi Takagi, Susumu Miyamoto, Endoscopic surgery for intraparenchymal and ventricular tumors. The 14th Asian Society for Neuro-Oncology (ASNO) Meeting October 30, 2017, Osaka, Oral presentation
6. Yoshiki Arakawa, Bin Liu, Yohei Mineharu, Masahiro Tanji, Ryuta Yokogawa, Shinya Tokunaga, Daiki Murata, Ko-ichi Fujimoto, Nobuyuki Fukui, Yukinori Terada, Etsuko Hattori, Susumu Miyamoto. PD-1/PD-L pathway is associated with two cell pattern formation in intracranial germinoma. the 22nd Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology 2017/11/16-19 San Francisco, Poster
7. Yoshiki Arakawa, Bin Liu, Yohei Mineharu, Masahiro Tanji, Ryuta Yokogawa, Daiki Murata, Ko-ichi Fujimoto, Nobuyuki Fukui, Yukinori Terada, Susumu Miyamoto. PD-1/PD-L pathway is associated with tumor-infiltrating lymphocytes in intracranial germinoma. 5th ICGCTS Columbus June 10, 2017, Columbus, Oral presentation

〔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  
<http://neurosor.kuhp.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：荒川 芳輝  
ローマ字氏名：Yoshiki Arakawa  
所属研究機関名：京都大学  
部局名：医学研究科  
職名：特定講師  
研究者番号（8桁）：20378649

研究分担者氏名：上久保 靖彦  
ローマ字氏名：Yasuhiko Kamikubo  
所属研究機関名：京都大学  
部局名：医学研究科  
職名：特定教授  
研究者番号（8桁）：60548527

(2)研究協力者

研究協力者氏名：寺田 行範  
ローマ字氏名：Yukinori Terada

研究協力者氏名：松井 恭澄  
ローマ字氏名：Yasuzumi Matsui

研究協力者氏名：牧野 恭秀  
ローマ字氏名：Yasuhide Makino

研究協力者氏名：住吉 壮介  
ローマ字氏名：Etsuko Hattori

研究協力者氏名：服部 悦子  
ローマ字氏名：Etsuko Hattori

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。