

令和 5 年 4 月 23 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09449

研究課題名(和文) EGFRキナーゼ阻害剤を用いた膠芽腫治療戦略を新規アプローチで「再」開発する

研究課題名(英文) rRe-challenge to develop new treatment strategies for glioblastoma using EGFR-TKI

研究代表者

鈴木 修平 (Suzuki, Shuhei)

山形大学・医学部・助教

研究者番号：90637175

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)：本研究課題において、患者に優しい抗がん剤の一つである第三世代EGFR-TKIオシメルチニブを用い、難治性腫瘍の代表である膠芽腫を治療する方法を報告するに至った。培養細胞および実験動物を用いた実験系において、オシメルチニブと気持ちの辛さを取ることに使われるブレクスピプラゾールなどの新規抗精神病薬を併用することで、効率的に、さらに目立った毒性を認めずに抗悪性腫瘍効果を得ることに成功し、その成果を報告した。今後さらに発展的課題に挑戦していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の重要な点は3つある。まず第一に治療標的となりそうと捉えられるものの治療開発が容易には進まなかった、膠芽腫におけるEGFRを治療標的とした知見であり本報告を嚆矢として更に画期的な治療開発がなされる可能性がある。第二に、殺細胞性抗がん剤を用いると嘔気や倦怠感、末梢神経障害などで患者の生活の質は著しく阻害されるが、本課題は第三世代EGFR-TKIを用いることで有害事象の点で有利である。第三に、患者の気持ちの辛さを改善し得る薬剤であるブレクスピプラゾールを用いることにより、精神的ケアにもつながる可能性を有している点である。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we have come to report a method of treating glioblastoma, a typical refractory tumor, using osimertinib, a third-generation EGFR-TKI, which is one of the most patient-friendly anticancer drugs. In an experimental system using cultured cells and experimental animals, we have obtained an efficient and efficient antineoplastic effect without significant toxicity by combining osimertinib with novel antipsychotic drugs such as brexpiprazole, which is also used to take away the pain of feelings. We plan to challenge further developmental issues in the future.

研究分野：癌化学療法

キーワード：膠芽腫 EGFR-TKI ドラッグリポジショニング ブレクスピプラゾール ルラシドン サバイビン

1. 研究開始当初の背景

グリオブラストーマ (GBM) は難治性腫瘍の筆頭であり、集学的治療を行ったとしても予後は極めて不良である。当時、期待されていた多くの新規治療は、ニボルマブを用いた CheckMate-143 試験などを始めほとんどが失敗に終わり、GBM 治療薬の現況は他癌に比較しても未だ厳しい状況であった。ところで GBM における上皮成長因子受容体 (EGFR) は治療標的として 30 年以上前から認知され (Liebermann TA, et al. Nature. 1985.; Wong AJ, et al. Proc Natl Acad Sci. 1987. など) EGFR を治療標的とした多くの研究がなされてきた。しかしながら EGFR-チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) を用いた臨床試験 (Brown PD, et al. J Clin Onc. 2008.; van den Bent MJ, et al. J Clin Oncol. 2009. など) は軒並み有効性を示せず、こういった結果からは EGFR の GBM 生存・増殖における役割が腫瘍形成過程で失われている可能性も示唆されており、EGFR がそもそも治療標的に適さない可能性も考えられるようになっていた。その一方で、臨床試験の結果は必ずしも EGFR の治療標的としての意義を否定するものではなく、「GBM が EGFR 機能不全時の back-up メカニズムを有しており、それが EGFR-TKI 抵抗性として機能している」という考え方で説明可能である。実際このような考え方を支持する報告 (Mukasa A, et al. Proc Natl Acad Sci. 2009; Klingler S, et al. Cancer Res. 2016. など) もこれまでに存在していたが、EGFR-TKI 抵抗性機序についてはいまだ多くが不明であり、従って抵抗性機序を克服し GBM の EGFR-TKI 感受性を回復できるような治療法の開発も進んでおらず、本研究提案に至った。

2. 研究の目的

以下の 3 つの点について解明やモデル構築などを達成することを本研究の目的とした。

GBM の EGFR-TKI 抵抗性機序にはどのようなものがあるか？

その抵抗性機序を標的とし、EGFR-TKI 感受性を回復できる薬剤にはどのようなものがあるか？

その薬剤を EGFR-TKI と組み合わせることで、有効かつ安全な GBM 治療のマウスモデルを構築できるか？

上記を通じて GBM における未知の EGFR-TKI 抵抗性機序を同定・克服し、もってこれまで期待されつつも有望な成果が得られていない EGFR-TKI をキードラッグとする GBM 治療戦略を『再』開発することを狙った。

3. 研究の方法

予備的検討で多少の知見を得ている薬剤については、それぞれの薬剤に関する既存情報をもとに標的分子、標的シグナル伝達経路、標的細胞内機序等を推定し、それぞれの分子、経路、機序を薬理的ないし遺伝学的 (siRNA ノックダウン and/or 遺伝子導入等) 方法により阻害あるいは活性化を行うことで GBM の EGFR-TKI 感受性がどのように変化するか検討した。さらに変化が認められた場合、どのような増殖シグナル、生存シグナルが影響を受け、関与しているかについても検討した。例えば前出の brexipiprazole の場合はセロトニン・ドパミン受容体に作用する薬剤であることからそれら受容体の下流シグナル経路・分子の関与について調べると同時に、brexipiprazole が抗アポトーシス分子 survivin の発現を低下させることを見出していることからその関与についても検討を行った。他剤についても類似する流れで検討を行った。

osimertinib と組み合わせた際の GBM に対する増殖抑制効果及び正常細胞への安全性の観点に加え血液脳関門通過の可能性を加味し、優先度の高いものをマウスへの脳腫瘍定位移植モデルを用いて in vivo における治療効果の検討を行った。脳腫瘍モデルとしては、ヌードマウスの脳へ 1×10^4 個の GBM 幹細胞を定位的に移植するモデルを用いた。Osimertinib は 5 mg/kg 隔日経口投与、候補薬剤は関連文献や予備実験結果を参考にして 4 群にて実験を行った。

治療効果は Kaplan-Meier 生存解析により行うと同時に、治療後一定期間後脳組織を摘出、組織学的に Ki67 による増殖解析、活性型カスパーゼ発現によるアポトーシス解析を行うことでも治療効果を評価した。

4. 研究成果

まず、Brexipiprazole は GBM をはじめとした各種癌幹細胞の幹細胞性を低下させることを明らかにした。患者由来幹細胞から樹立した GBM 幹細胞の GS-Y03 をはじめとして、代表的膵癌細胞 PANC-1 から樹立した PANC-1 CSLC などにおいても Brexipiprazole 処理により CD133 などの細胞表面マーカーによる評価などで幹細胞性の低下を確認した。さらに薬剤抵抗性の減弱も確認し

た。それらは部分的に抗アポトーシス分子である Survivin の減弱によるものも関係性が示唆され、動物実験での腫瘍形成の低下および摘出腫瘍の免疫染色によっても確認することができた。

つづいて、conventional な GBM 細胞である A172 から樹立した幹細胞である A172 GS や、GS-Y03 と異なる患者由来細胞から樹立した GS-NCC01 や GS-Y01 を用いてさらに実験を進めた。Brexiprazole と Osimertinib による共処理で多くの GBM 幹細胞を死滅させることに成功し、共通する機序として、前述のごとく Survivin を介した系が示唆され YM155 を用いた薬理的阻害や siSurvivin を用いた遺伝子学的阻害によっても Osimertinib 感受性亢進の再現性を得ることができ、Brexiprazole が Survivin を介して GBM 幹細胞へ Osimertinib 感受性を付与することが実験的裏付けをもって強く示唆された。

また、その結果はヌードマウス頭蓋内への定位置植モデルを用いて、Osimertinib と Brexiprazole をヌードマウスへの投与を行って生存分析を行ったが有意に Osimertinib と Brexiprazole の併用療法が有効であることが示され、毒性についても許容範囲であったことから今後の治療開発に関わる重要な知見を得ることができたと考えている。

また、新規の抗精神病薬で気持ちの辛さの緩和にもつながる 5-HT₇ を標的とした新規薬剤である Lurasidone を用いても検討を行ったところ、GBM 幹細胞で Brexiprazole 同様に、正常細胞へ毒性を与えることなく Osimertinib 感受性を亢進させることに成功し、その機序として Survivin の減弱が示唆されたが、それに加えてオートファジーの亢進も更なる機序として併せて示唆され、3-Methyladenine などを用いた薬理学的実験においても確からしいことを確認することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 SUZUKI SHUHEI, YAMAMOTO MASAHIRO, SANOMACHI TOMOMI, TOGASHI KEITA, SEINO SHIZUKA, SUGAI ASUKA, YOSHIOKA TAKASHI, OKADA MASASHI, KITANAKA CHIFUMI	4. 巻 41
2. 論文標題 Lurasidone Sensitizes Cancer Cells to Osimertinib by Inducing Autophagy and Reduction of Survivin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4321 ~ 4331
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.15237	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 Suzuki Shuheij, Yamamoto Masahiro, Sanomachi Tomomi, Togashi Keita, Sugai Asuka, Seino Shizuka, Okada Masashi, Yoshioka Takashi, Kitanaka Chifumi	4. 巻 8
2. 論文標題 Doxazosin, a Classic Alpha 1-Adrenoceptor Antagonist, Overcomes Osimertinib Resistance in Cancer Cells via the Upregulation of Autophagy as Drug Repurposing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 273 ~ 273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines8080273	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Shuheij, Okada Masashi, Sanomachi Tomomi, Togashi Keita, Seino Shizuka, Sato Atsushi, Yamamoto Masahiro, Kitanaka Chifumi	4. 巻 295
2. 論文標題 Therapeutic targeting of pancreatic cancer stem cells by dexamethasone modulation of the MKP-1/JNK axis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 18328 ~ 18342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.015223	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 Suzuki Shuheij, Yamamoto Masahiro, Sanomachi Tomomi, Togashi Keita, Sugai Asuka, Seino Shizuka, Yoshioka Takashi, Kitanaka Chifumi, Okada Masashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Brexiprazole, a Serotonin-Dopamine Activity Modulator, Can Sensitize Glioma Stem Cells to Osimertinib, a Third-Generation EGFR-TKI, via Survivin Reduction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11070947	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sanomachi Tomomi, Suzuki Shuhei, Togashi Keita, Sugai Asuka, Seino Shizuka, Okada Masashi, Yoshioka Takashi, Kitanaka Chifumi, Yamamoto Masahiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Spironolactone, a Classic Potassium-Sparing Diuretic, Reduces Survivin Expression and Chemosensitizes Cancer Cells to Non-DNA-Damaging Anticancer Drugs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11101550	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 SANOMACHI TOMOMI, SUZUKI SHUHEI, TOGASHI KEITA, SEINO SHIZUKA, YOSHIOKA TAKASHI, KITANAKA CHIFUMI, OKADA MASASHI, YAMAMOTO MASAHIRO	4. 巻 39
2. 論文標題 Brexiprazole Reduces Survivin and Reverses EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance in Lung and Pancreatic Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4817 ~ 4828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13667	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 Suzuki Shuhei, Yamamoto Masahiro, Togashi Keita, Sanomachi Tomomi, Sugai Asuka, Seino Shizuka, Yoshioka Takashi, Kitanaka Chifumi, Okada Masashi	4. 巻 10
2. 論文標題 <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> anti-tumor effects of brexpiprazole, a newly-developed serotonin-dopamine activity modulator with an improved safety profile	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 3547 ~ 3558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.26949	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔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 鈴木修平、佐野町友美、山本雅大、岡田雅司、吉岡孝志、北中千史
2. 発表標題 Brexiprazole, a Serotonin Dopamine Modulator, Can Sensitize Glioma Stem Cells to Osimertinib via Survivin Reduction
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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