

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22685

研究課題名(和文) グリオーマのステムネス維持転写ネットワークを標的とした核酸類似化合物開発の挑戦

研究課題名(英文) Study to develop nucleic acid analog to inhibit transcription network to maintain glioma stemness

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)：グリオーマの治療困難な要因は、がん幹細胞の存在である。ステムネス制御転写因子としてPOU3F2、SOX2、SALL2、OLIG2が同定されている。本研究では、転写因子のシスエレメントに結合することで転写活性を制御する核酸類似化合物の開発を行った。各転写活性スクリーニングからSOX2抑制に有効なChb-SOX2を同定した。Chb-SOX2は、グリオーマ細胞の増殖抑制作用を示し、がん幹細胞スフェア形成を障害した。Chb-SOX2は、細胞死、細胞周期制御に関わる遺伝子発現を誘導していた。これらの結果から、Chb-SOX2がグリオーマがん幹細胞を標的とした治療薬として有望であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グリオーマの中で最も悪性度の高い膠芽腫は、手術、放射線治療、化学療法を行っても、生存期間中央値は16-18か月と非常に予後の悪い脳腫瘍である。有効な治療薬はテモゾロミと1剤であり、その効果も限定的である。グリオーマは進行すると運動障害、言語障害を生じるため、予後不要に加えて生活の質が著しく悪化しやすい。本研究では、有望な治療法がないグリオーマに対して、特に治療困難な腫瘍成分であるがん幹細胞を標的とする治療薬となりうることを示した。本研究結果からグリオーマに対する新たな創薬が進むことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Gliomas inevitably recur after chemoradiation therapy. Gliomas possess cancer stem cells with chemoresistance and radioresistance. As transcription factors for stemness, POU3F2, SOX2, SALL2, OLIG2 are identified. In this study, a small molecule was developed to regulate transcription factors for stemness. Chb-SOX2 was identified to inhibit SOX2 functions. Chb-SOX2 inhibits glioma growth and sphere formation. In the analysis of gene expression, Chb-SOX2 induced apoptosis and dysregulate cell cycle. These results suppose that Chb-SOX2 may be a novel drug to treat gliomas targeting cancer stem cells.

研究分野：脳神経外科

キーワード：がん幹細胞 グリオーマ ステムネス マスター転写因子 SOX2 転写ネットワーク 転写活性制御

1. 研究開始当初の背景

我々は、グリオーマの診断、治療開発を目的に、診断・バイオマーカー探索、病態解析、治療開発の3本の柱を軸に研究を推進してきた。治療開発においては、転写因子のシスエレメントに結合することで転写活性を制御(スイッチ)する核酸類似化合物の開発に取り組んできた。その結果、核酸類似化合物を用いて転写因子 RUNX の転写ネットワークをスイッチオフすることで強い抗白血病効果を示すことを発見し(Morita K, J Clin Invest, 2017)、新しい化学療法薬としての可能性を示唆した。

グリオーマでは、ステムネスを示すがん幹細胞(cancer stem cell)が、腫瘍細胞性ヒエラルキーを形成し、腫瘍再形成や治療抵抗性の原因となっている(Bao, Nature, 2006; Piccirillo, Nature, 2006;)。近年、グリオーマのステムネスを制御するマスター転写因子として POU3F2, SOX2, SALL2, OLIG2 が同定された(Suva, Cell, 2014)。マスター転写因子は、個体発生において、転写ネットワークを介して他の一群遺伝子の発現から特定の表現型を制御する。グリオーマのステムネスを制御するマスター転写因子が同定され、これらの転写因子が相互作用することでグリオーマのステムネス維持に必要な転写ネットワークを形成している。そこで、がん幹細胞のステムネスを崩壊するためにマスター転写因子が治療標的となると仮説を立て、本研究に着手した。

2. 研究の目的

本研究では、グリオーマのステムネス維持を制御するマスター転写因子である POU3F2, SOX2, SALL2, OLIG2 を標的とした核酸類似化合物を開発することを目的とした。さらに、開発した核酸類似化合物が来す転写ネットワーク制御から生じる遺伝子発現、グリオーマがん幹細胞のステムネスへの作用を解析し、グリオーマの根治が得られる新規治療薬としての可能性を検討した。

3. 研究の方法

- 1) グリオーマのステムネスを制御するマスター転写因子を阻害する核酸類似化合物の開発するために、グリオーマ細胞株 A172、KALS-1、T98G を用いて各種核酸類似化合物の殺細胞能を測定した。
- 2) グリオーマ細胞株から作成したスフェア細胞を用いて、グリオーマ殺細胞能を確認した核酸類似化合物によるがん幹細胞のステムネス制御効果を測定した。
- 3) ステムネス制御効果を認めた核酸類似化合物による転写ネットワークとエピゲノムの変化をウエスタンブロットで解析した。

4. 研究成果

- 1) 各転写活性スクリーニングから SOX2 抑制に有効な核酸類似化合物 Chb-SOX2 を同定した。核酸類似化合物 Chb-SOX2 は、グリオーマ細胞株 A172、KALS-1、T98G に対して強い細胞増殖抑制作用を示した(図1)。
- 2) グリオーマ細胞株は幹細胞用培地においてがん幹細胞を含むスフェア形成を示す。そこで、がん幹細胞スフェアに対する核酸類似化合物 Chb-SOX2 の作用を検証した。その結果、がん幹細胞スフェアの形成を阻害し、多くの腫瘍細胞を細胞死へと誘導することを確認した(図2)。

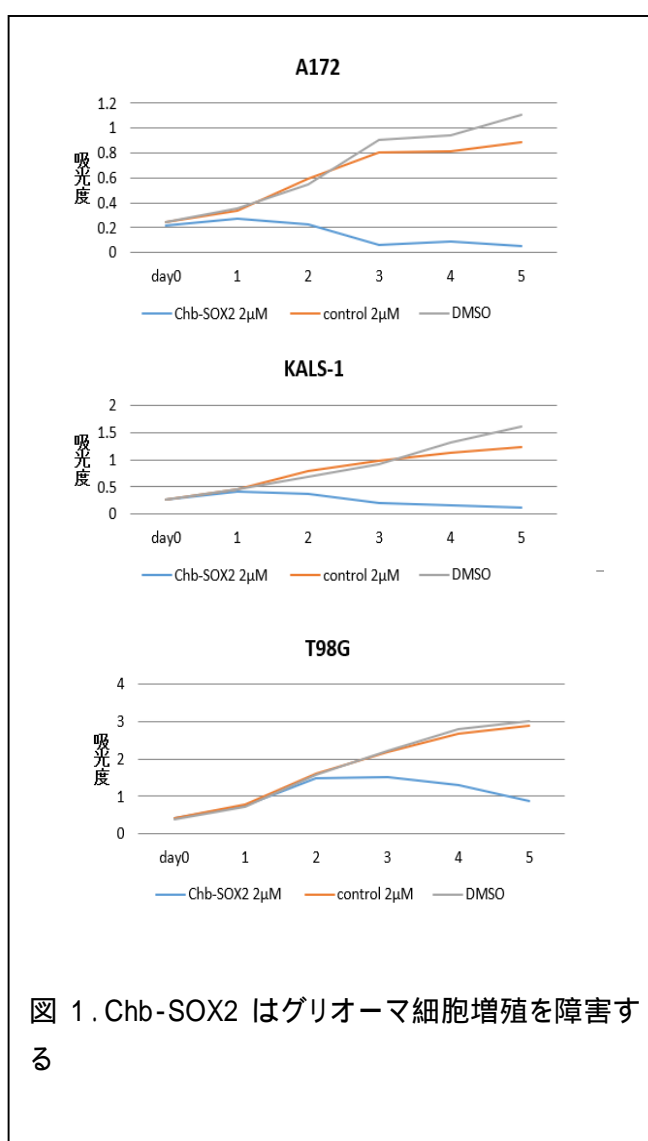


図1. Chb-SOX2 はグリオーマ細胞増殖を障害する

- 3) 遺伝子発現解析では多数の遺伝子発現に変化が認められ、転写ネットワークに大きな作用を示していた。Chb-SOX2 により、ステムネス・シグネチャーである CD44 などに発現低下を認めた。細胞シグナル動態解析からは、Chb-SOX2 は、survivin、p21 など細胞死、細胞周期制御に関わる遺伝子発現に変化が明らかとなった(図 3)。
- 4) これらの結果から、Chb-SOX2 がグリオーマのステムネス維持を障害するとともに、グリオーマがん幹細胞を標的とした治療薬として有望であることが明らかとなった。Chb-SOX2 は、腫瘍細胞選択性が低く、正常幹細胞にも作用することが示唆された。そこで、腫瘍選択性を高めた核酸類似化合物開発の必要性が確認された。
- 5) がん幹細胞は、グリオーマのみでなく、各種がん腫において治療抵抗性の要因となっている。各種がん腫においては、ステムネスを制御するマスター転写因子について未だ十分な理解が進んでいない。本研究で得られた成果は、他のがん腫におけるステムネス制御に関わるマスター転写因子やそのエピゲノム異常の解明に応用が可能である。
- 6) 本研究で開発する核酸類似化合物は、単なる治療薬としての側面ではなく、複雑な転写制御や転写ネットワークの解明に貢献する。核酸類似化合物が転写活性の“On”と“Off”を自由に行える技術へ進化することで様々な生物学的事象を制御する転写ネットワークの解明へと大きく発展することが期待される。

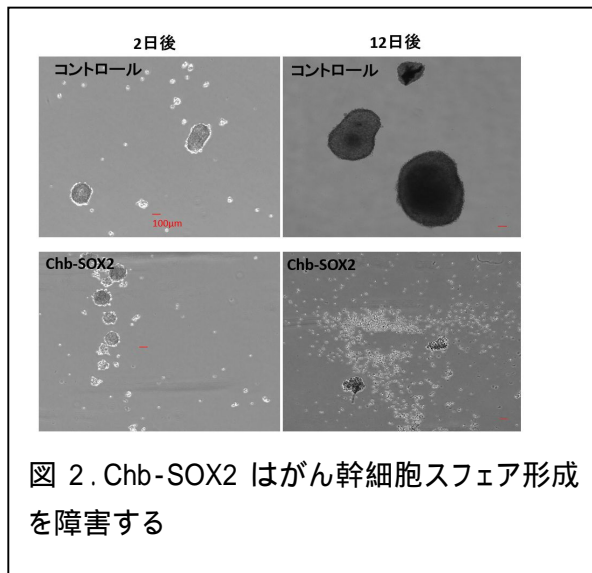


図 2. Chb-SOX2 はがん幹細胞スフェア形成を障害する

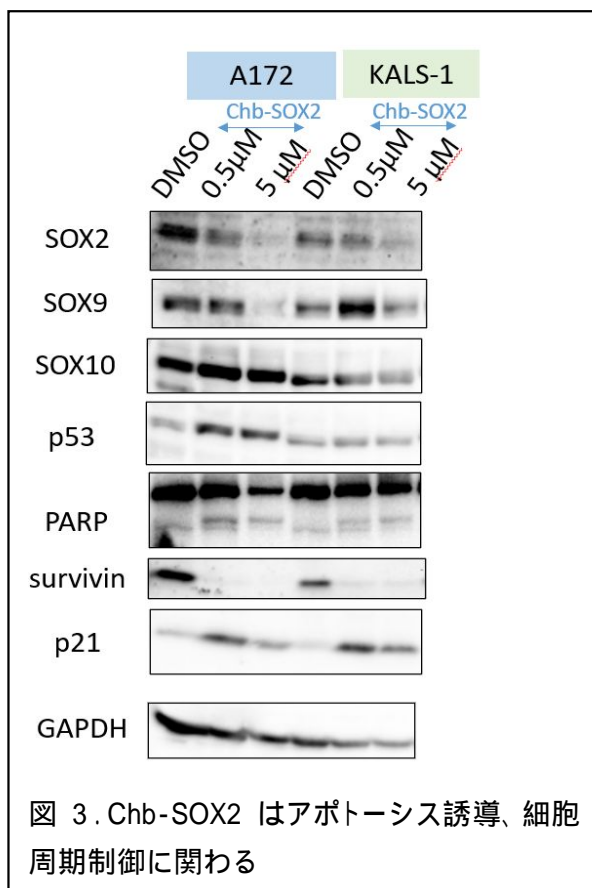


図 3. Chb-SOX2 はアポトーシス誘導、細胞周期制御に関わる

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Terada Yukinori, Jo Norihide, Arakawa Yoshiki, Sakakura Megumi, Yamada Yosuke, Ukai Tomoyo, Kabata Mio, Mitsunaga Kanae, Mineharu Yohei, Ohta Sho, Nakagawa Masato, Miyamoto Susumu, Yamamoto Takuya, Yamada Yasuhiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Human Pluripotent Stem Cell-Derived Tumor Model Uncovers the Embryonic Stem Cell Signature as a Key Driver in Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2608 ~ 2621.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.02.009	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 Akazawa Ryo, Umeda Katsutsugu, Saida Satoshi, Kato Itaru, Hiramatsu Hidefumi, Sakamoto Akio, Arakawa Yoshiki, Sumiyoshi Shinji, Okamoto Takeshi, Moritake Hiroshi, Adachi Souichi, Takita Junko	4. 巻 50
2. 論文標題 Temozolomide and etoposide combination for the treatment of relapsed osteosarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 948 ~ 952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa070	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 Natsume Atsushi, and Members of Japan Clinical Oncology Group Brain Tumor Study Group (JCOG-BTSG), Yoshiki Arakawa, et al.	4. 巻 148
2. 論文標題 Genetic analysis in patients with newly diagnosed glioblastomas treated with interferon-beta plus temozolomide in comparison with temozolomide alone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuro-Oncology	6. 最初と最後の頁 17 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11060-020-03505-9	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 Hiratsuka Takuya, Arakawa Yoshiki, Yajima Yuka, Kakimoto Yu, Shima Keisuke, Yamazaki Yuzo, Ikegami Masahiro, Yamamoto Takushi, Fujiwake Hideshi, Fujimoto Koichi, Yamada Norishige, Tsuruyama Tatsuaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Hierarchical Cluster and Region of Interest Analyses Based on Mass Spectrometry Imaging of Human Brain Tumours	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62176-8	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 Miyahara Hiroaki, Natsumeda Manabu, Yoshiki Arakawa, et al.	4. 巻 38
2. 論文標題 Topoisomerase II immunoreactivity (IR) co-localizes with neuronal marker-IR but not glial fibrillary acidic protein-IR in GLI3-positive medulloblastomas: an immunohistochemical analysis of 124 medulloblastomas from the Japan Children's Cancer Group	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 109 - 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10014-021-00396-0	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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Etsuko Yamamoto Hattori, Yoshiki Arakawa, Youhei Mineharu, Masamitsu Mikami, Yasuzumi Matsui, Hiroshi Sugiyama, Souichi Adachi, Yasuhiko Kamikubo
2. 発表標題 Suppression of glioblastoma through novel drug based on "Gene Switch Technology"
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本悦子、荒川芳輝、峰晴陽平、三上真充、松井恭澄、杉山 弘、足立壯一、上久保靖彦
2. 発表標題 遺伝子スイッチ法を用いた、glioblastoma に対する新規治療戦略の構築
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2020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	荒川 芳輝 (Yoshiki Arakawa) (20378649)	京都大学・医学研究科・講師 (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	杉山 弘 (Hiroshi Sugiyama) (50183843)	京都大学・理学研究科・教授 (14301)	
研究分担者	上久保 靖彦 (Yasuhiko Kamikubo) (60548527)	京都大学・医学研究科・特定教授 (14301)	

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