

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17943

研究課題名（和文）代謝制御は悪性髄膜腫の新たな治療となりうるか？

研究課題名（英文）Can the tumor metabolic reprogramming be a novel therapeutic means for malignant meningiomas？

研究代表者

江口 盛一郎（EGUCHI, Seiichiro）

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：80648650

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では病理組織学的悪性度（WHOグレード）の異なる髄膜腫検体に対してメタボローム、トランスクリプトーム解析を行なった。結果、グレード2の異型性髄膜腫の中には、分子生物学的悪性度の異なる亜群が混在しており、この亜群は分子生物学的にはグレード1の髄膜皮性髄膜腫に近いが、癌細胞で亢進しているグルタミンオリシスが亢進しており、悪性腫瘍様の代謝経路の変動を示すことを見出した。本研究により、「髄膜腫は悪性化に伴い代謝経路が変動する」という仮説を証明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでも、異型性髄膜腫には臨床的に再発が認められない予後良好群と、容易に再発する予後不良群が混在していると考えられてきたが、本研究の結果、分子生物学の側面から悪性度の異なる亜群が存在することを証明した意義は大きい。これは、異型性髄膜腫が髄膜腫の悪性化の分子機序を解明する鍵となりうる可能性を示唆している。また、この亜群では特徴的な代謝経路の変動も同定されており、この代謝経路の変動を制御することで難治性の悪性髄膜腫に対する新たな治療ターゲットが見出せる可能性もある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we performed metabolome and transcriptome analyses for meningothelial, atypical and anaplastic meningiomas. As a result of our research, WHO grade 2 (G2) meningioma included a molecular-biologically different subgroup (G2m group). G2m group were similar to WHO grade 1, meningothelial meningioma in the metabolites and the gene expression. They, however, had an upregulated change in metabolic pathway like a malignant tumor, which was so-called glutaminolysis. Finally, we proved the hypothesis that the metabolic pathway could change along with malignant change in meningiomas.

研究分野：脳腫瘍学

キーワード：髄膜腫 不均一性 病理組織学的悪性度 分子生物学的悪性度 メタボローム解析 トランスクリプトーム解析

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

髄膜腫は髄膜皮細胞から発生する間葉系腫瘍であり、多くは緩徐に発育、増大し、脳を外部から圧排する良性腫瘍である。手術により完治が期待できる腫瘍であるが、中には高い増殖能と脳への浸潤能を獲得して再発を繰り返す亜型もあり、髄膜腫の臨床で残された課題である。間葉系腫瘍である髄膜腫には有効な化学療法がなく、再発を繰り返す髄膜腫に対して放射線治療のみが唯一の補助治療であるものの、悪性髄膜腫は絶対数が少なく標準的治療が確立していない。しかしながら、悪性髄膜腫の代表である退形成性髄膜腫の5年生存率は47%、生存年数中央値は1.5年と予後不良であり、生命予後の改善と標準的治療の構築が喫緊の課題である。

この難題に対し、昨今の分子生物学的手法の発展に伴い、髄膜腫においても網羅的な遺伝子解析が進められ、*NF2*、*TRAF7*、*AKT1*、*KLF4*、*PIK3CA*、*SMO*、*POLR2A*といった遺伝子の変異が同定され、予後規定因子として注目されている。また、DNAの網羅的メチル化解析が進められ、従来の病理組織学的分類よりDNAのメチル化による分類の方が予後と相関することが明らかされた。これらの研究により、新たな予後規定因子や、予後に直結する新たな分子生物学的分類が提唱されてきてはいるものの、悪性髄膜腫の予後の改善が期待できる新薬や新規治療の報告はない。

そこで研究代表者の江口はこれまでのゲノミクス、エピゲノミクスとは異なる視点からのアプローチが必要と考えた。癌細胞には特異的なエネルギー代謝経路が発現しているという事実を基に、悪性髄膜腫の細胞でも同様に代謝経路の変動が認められるのではないかと考えた。そこで、これまでに髄膜腫検体に対してメタボローム解析を行い、良性髄膜腫（世界保健期間：WHOのグレード1: G1）、悪性髄膜腫（同グレード3: G3）、中間悪性度の髄膜腫（同グレード2: G2）の間で代謝プロファイルに差があることを同定した。また、髄膜腫はG1からG2を経由してG3へと悪性転化すると考えられてきたが、G3の代謝プロファイルはG2の代謝プロファイルの延長上にあるのではないことが明らかとなった（図1）。これはG3では、G1からG2への変化とは異なる代謝経路が亢進している可能性を示しており、他臓器の癌と同様に腫瘍細胞の増殖に応じた血管新生が伴わず、低酸素状態に陥り、嫌気性代謝が亢進していると考えた。本研究ではこの結果をもとに次の段階として、変動、亢進している代謝経路を同定するとともに発現が更新している遺伝子を同定し、この代謝経路の変動を制御することができれば、新たな悪性髄膜腫の治療ターゲットを見いだせるのではないかと考えた。

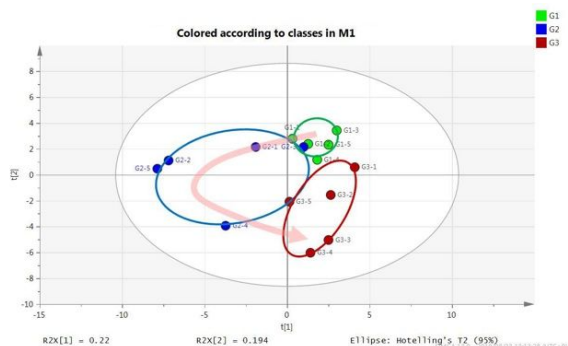


図1 代謝プロファイルの変動（予備実験）

2. 研究の目的

本研究においては、髄膜腫の悪性化に伴って起こるエネルギー代謝の変動を制御するという視点から、髄膜腫の悪性化を制御する新たな治療ターゲットを同定することを最終的な目標とした。この最終目標を達成するために、具体的には以下の3つを主な研究目的として設定した。

髄膜腫の悪性化に伴い変動する代謝経路の同定する

エネルギー代謝の変動に伴い、発現が亢進している遺伝子を同定する

の遺伝子を制御することによる悪性髄膜腫細胞の増殖制御の検証する

3. 研究の方法

病理組織学的悪性度(WHOグレード)の異なる3種類の髄膜腫検体、Meningothelial meningioma (G1): 20検体、Atypical meningioma (G2): 20検体、Anaplastic meningioma (G3): 10検体を分析の対象とした。過去の報告から、同一のWHOグレードの髄膜腫であっても、病理組織学的な型が異なると遺伝子変異も異なることが知られており、腫瘍の背景因子を統一するため、各グレードにおける最も頻度の高い組織型を選択した。あらかじめ凍結保存されているこれらの検体に対して、探針エレクトロスプレーイオン化質量分析(PESI-MS/MS)を用いてメタボローム解析を行った。さらに同一検体からRNAの抽出を行い、トランスクリプトーム解析を行い、得られたデータに対して統計ソフトRを用いて多変量解析を行った。

4. 研究成果

(1) 新規解析プラットフォームの完成

まず、これまでに開発途中であった、PESI-MS/MSと統計ソフトRを組み合わせた、検体の分析から結果の提示までを自動で行うプラットフォーム「PiTMaP」を完成させ、本研究の対象

検体にも応用した。メタボローム解析(質量分析)から R による多変量解析を行い、結果をグラフとして問題なく描出しうることを確認し、完成したプラットフォームを論文として Analytical Chemistry 誌に発表した。

(2) 網羅的メタボローム解析

次に PiTMAP を使用して、本研究の対象とした髄膜腫 50 検体の網羅的メタボローム解析を行った。得られた結果に対して多変量解析を行ったところ、G2 の中に代謝プロファイルが他の G2 と明らかに異なる集団があることが確認され G2m とした(図 2)。この G2m は他の G1 や G3 と代謝プロファイルは異なっており、当初メタボローム解析における単純な測定エラーによる集団の可能性も考えたが、G2m に含まれる検体は代謝プロファイルが類似しており、測定エラーによるものではないことがわかった。

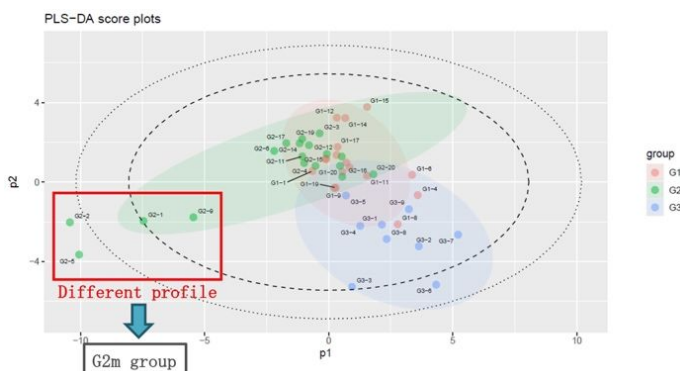


図 2 WHO グレード別の網羅的代謝プロファイル

臨床的には G2 の Atypical meningioma の中には長期予後の良好なものも不良なものも混在していることが知られているが、本研究で分子生物学的なプロファイルが異なる集団が混在していることが示された。偶然見つかった G2m であったが、本グループの代謝プロファイルを代謝マップに投影したところ、クエン酸とイソクエン酸が低下しており、 α -ケトグルタル酸 コハク酸 フマル酸 リンゴ酸 オキサロ酢酸がいずれも上昇していた。この代謝経路は癌細胞で亢進が確認されているグルタミノリシスであり、G2m ではグルタミノリシスが亢進していることがわかった(図 3)。また、TCA 回路の重要な酵素の 1 つであるアコニターゼが阻害されている可能性が示唆された(図 3)。G2m は病理組織学的には髄膜腫であることには疑いの余地はないが、通常の G2 と比較して、臨床的に予後不良なわけではなく、病理組織学的に悪性度が高いわけでもない。このような集団でグルタミノリシスが亢進していることは非常に興味深い結果であった。

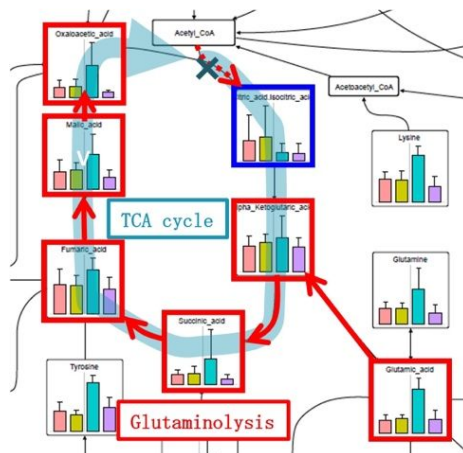


図 3 G2m 群における代謝経路の変動

なお、G2m を除外して G1、G2、G3 のみで解析を行うと、本研究前に行った予備実験と同じ結果となった。予備実験と異なる検体を用いて解析を行っても G1、G2、G3 の代謝プロファイルは同一軸上にはなく、G1 から G3 への変化が生物学的悪性度を示しているとすれば(図 1 縦軸) G1 から G2 への変化は悪性化とは異なる変化であると考えられた。

(3) トランスクリプトーム解析

(2) でメタボローム解析を行ったのと同じ検体から RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析を行った。結果、G2m では G2 と比較して EGF ファミリーに属する増殖因子の遺伝子発現が亢進していた(図 4)。これは癌細胞において悪性化に関与している因子であり、癌細胞の増殖、浸潤、転移の上で重要な役割を果たす因子である。また、細胞周期の制御に関与する Cyclin ファミリーを属するタンパク質をコードする遺伝子の発現も亢進していた。この結果は、G2m が G2 と比較して、細胞増殖能が亢進する方向に遺伝子が発現していることが示唆されており、(2) のエネルギー代謝におけるグルタミノリシスが亢進していることと矛盾しない。上記のうち、EGF ファミリーに属する増殖因子に関しては、他臓器の癌において新規の治療ターゲットとして注目されており、本研究結果からは G2m に限ってにはなるが、髄膜腫においても新規の治療ターゲットとして期待できる可能性が示唆された。

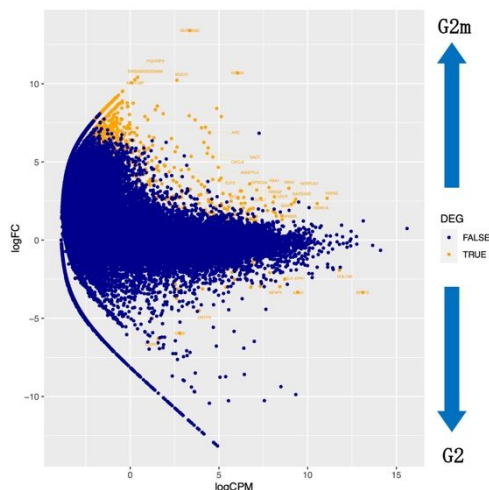


図 4 G2 群と G2m 群の発現遺伝子の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 江口盛一郎	4. 巻 47
2. 論文標題 脳科学・脳疾患における質量分析の応用 脳腫瘍研究における質量分析の応用と今後の課題	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JSBMS Letters	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Zaitzu K, Eguchi S, Iguchi A	4. 巻 7
2. 論文標題 Bioinformatics and data science for mass spectrometry data analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Medical Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24508/mms.2023.06.006	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 Zaitzu K, Eguchi S, Ohara T, Kondo K, Ishii A, Tsuchihashi H, Kawamata T, Iguchi A	4. 巻 92
2. 論文標題 PiTMaP: A New Analytical Platform for High-Throughput Direct Metabolome Analysis by Probe Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry Using an R Software-Based Data Pipeline	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 8514, 8522
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.analchem.0c01271.	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8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江口盛一郎、財津桂
2. 発表標題 脳腫瘍研究における質量分析の応用と今後の課題
3. 学会等名 第47回日本医用マススペクトル学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江口盛一郎、川俣貴一、財津桂
2. 発表標題 オミクス解析による髄膜腫の悪性化機序の検討
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第81回学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江口盛一郎、松岡剛、堀場綾子、岡美栄子、林基弘、川俣貴一
2. 発表標題 頭蓋底異型髄膜腫は非頭蓋底異型髄膜腫より予後良好なのか?
3. 学会等名 第27回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江口盛一郎、松岡剛、川俣貴一
2. 発表標題 発生源に基づく髄膜腫の病理組織学的検討
3. 学会等名 第33回日本頭蓋底外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江口盛一郎、松岡剛、松岡綾子、林基弘、川俣貴一
2. 発表標題 難治性の退形成性髄膜腫とどう闘うか?
3. 学会等名 第26回日本脳腫瘍の外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江口盛一郎, 松岡剛, 川俣貴一, 財津桂
2. 発表標題 代謝物から検討した髄膜腫の悪性化機序
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第80回学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江口盛一郎, 松岡剛, 林基弘, 堀場綾子, 田村徳子, 川俣貴一
2. 発表標題 頭蓋底異型髄膜腫の再発/再増大症例に対する当院での治療戦略
3. 学会等名 第32回日本頭蓋底外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 江口盛一郎, 藍原康雄, 千葉謙太郎, 松岡剛, 川俣貴一
2. 発表標題 小児髄膜腫の臨床的特徴と長期予後
3. 学会等名 第48回日本小児神経外科学会
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
---------------------------	-----------------------	----

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