

平成 30 年 5 月 15 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10589

研究課題名(和文)腎細胞癌に対するtemsirolimusおよびcustirsen併用療法の検討

研究課題名(英文)Assessment of the efficacy of combined treatment with temsirolimus and custirsen for renal cell carcinoma

研究代表者

三宅 秀明(MIYAKE, HIDEAKI)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：60379435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：腎癌細胞株Caki-1にtemsirolimus(Tem)を投与すると、clusterin発現は上昇したが、custirsen(Cus)を併用投与することにより、発現上昇は抑制された。また、Tem、Cusの併用投与により、Caki-1のTemに対する感受性は亢進した。Sublethal doseのTemにCusを併用投与すると、Caki-1にアポトーシスが誘導され、Mcl-1の発現は低下した。さらに、in vivoでもTem、Cusの併用療法は、腫瘍の増殖を有意に抑制した。以上より、Tem、Cusの併用療法は、腎癌に対する新規治療となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the efficacy of combined treatment with temsirolimus plus custirsen in a human RCC Caki-1 model. Although clusterin expression was increased by temsirolimus, additional treatment of Caki-1 significantly inhibited clusterin upregulation. Combined treatment of temsirolimus and custirsen synergistically enhanced the sensitivity of Caki-1 to temsirolimus. Apoptotic changes were marked in Caki-1 following combined treatment with a sublethal dose of temsirolimus and custirsen, accompanying the significant downregulation of Mcl-1. In-vivo systemic administration of temsirolimus plus custirsen significantly inhibited the growth of Caki-1 tumors compared with that of temsirolimus plus control ODN. Silencing of clusterin using custirsen resulted in the further enhancement of proapoptotic activity induced by temsirolimus in a human RCC model.

研究分野：泌尿器科悪性腫瘍

キーワード：腎細胞癌 temsirolimus custirsen clusterin

1. 研究開始当初の背景

腎細胞癌 (RCC) は抗癌化学療法や放射線療法に対する感受性が低く、外科的切除が唯一有効な治療であり、有転移症例に対しては、その奏効率は低いものの interferon- γ や interleukin-2 によるサイトカイン療法が第一選択の治療として選択されていた。しかし、近年 RCC の進展を司る分子機構の詳細が徐々に解明され、その機構に基づいて開発された分子標的薬が転移性 RCC の治療に導入されてきた。本邦においても、2008 年以降 multiple tyrosine kinase inhibitor (TKI) である sorafenib, sunitinib, axitinib, pazopanib および mammalian target of rapamycin (mTOR) 阻害剤である everolimus, temsirolimus の計 6 剤が保険収載され実臨床の場で使用可能となり、その優れた抗腫瘍効果故に転移性 RCC の治療の主体はこれら分子標的薬剤にほぼ置き換えられつつある。しかし、これら RCC に対する分子標的薬にも幾つかの問題点が指摘されている。その一つが高い奏効率を示すにもかかわらず、標的病変の完全消退に至ることは非常に稀であり、奏効後比較的短期間の内に腫瘍進展を来すという特性である。したがって、何らかの新規治療を併用することにより、分子標的薬の効果をより向上させ得る RCC に対する新たな治療戦略を構築することは、転移性 RCC 治療の極めて重要な課題である。

2. 研究の目的

研究代表者は RCC に対する分子標的薬が使用可能となって以来、本邦でも有数の転移性 RCC 症例に対する分子標的薬治療に携わっている。特に mTOR 阻害剤の temsirolimus に関しては、その臨床的特性を詳細に解析し、同剤が非常に忍容性に優れて

おり透析患者等の performance status が不良な症例にも投与可能であるが、腫瘍縮小効果は sunitinib 等の TKI に比し劣っていることを報告した。

また、ヒト RCC 細胞株を用いて同剤に対する耐性獲得機序の解析にも取り組み、Akt を含む mTOR complex-2 (mTORC2) が関与するシグナル伝達系に加え mitogen activated kinase (MAPK) の恒常的活性化の関与を明らかにした。一方、研究代表者は、強力な抗アポトーシス活性を有する分子シャペロンである clusterin を標的にしたアンチセンスオリゴ (AS ODN) である custirsen の開発に中心的役割を果たしてきたが、同剤がアポトーシス誘導刺激の下で Akt および MAPK の活性を顕著に阻害することを報告している。また、custirsen は既に多くの臨床試験でその効果が検証されており、重篤な有害事象が殆ど発生しないことが明らかになっている。以上より、custirsen を併用することにより temsirolimus の忍容性を損なうことなく、その抗腫瘍効果を増幅することが可能であると考えられ、本併用療法の有用性を解析するために本研究の申請を行うに至った次第である。

3. 研究の方法

複数のヒト RCC 細胞株を用いて、mTOR 阻害剤である temsirolimus および clusterin を標的とした第二世代の AS ODN である custirsen の併用療法の効果を評価する。In vitro の実験系では、細胞増殖に対する影響に加え、遊走能、浸潤能等に対する効果も含めて検討する。動物実験においては、複数の投与スケジュールを設定し、同併用療法の腫瘍増殖および転移形成に対する阻害効果を検討する。また、RCC 細胞株におけるシグナル伝達、EMT、アポトーシス、autophagy および血管新生関連分子の発現レベルを、

temsirolimusあるいはcustirsen単独およびその併用投与後に比較解析することにより、同併用療法の抗腫瘍効果を司る重要な分子を同定する。さらに、研究代表者が有する臨床標本（temsirolimus投与歴を有する約80症例の腎摘除標本およびtemsirolimus投与前後に得た約40例の血清サンプル）における上記標的分子の発現を免疫組織化学染色およびELISA法等により評価し、temsirolimus投与後の臨床経過との相関を検討する。これにより、RCCのtemsirolimusに対する治療抵抗性獲得を早期に診断し得る分子マーカーを同定する。

4. 研究成果

ヒト腎癌細胞株Caki-1にtemsirolimusを投与すると、clusterin発現レベルは顕著に上昇したが、temsirolimusにcustirsenを併用投与することにより、temsirolimusによるclusterin発現上昇は有意に抑制された。また、temsirolimusおよびcustirsenを併用投与することにより、Caki-1のtemsirolimusに対する感受性は亢進し、IC₅₀は約50%に低下した。Sublethal doseのtemsirolimusにcustirsenを併用投与すると、Caki-1に顕著なアポトーシスが誘導され、Mcl-1の発現低下を伴っていた。さらに、in vivoにおいてもtemsirolimusおよびcustirsenを併用療法は、temsirolimusおよびコントロールオリゴの併用療法に比し、ヌードマウス皮下に形成された腫瘍の増殖を有意に抑制した。以上より、temsirolimusおよびcustirsen併用療法は、進行RCCに対する有望な新規治療となり得る可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3件)

Nishikawa M, Miyake H, Gleave M,

Fujisawa M. Effect of Targeting Clusterin Using OGX-011 on Antitumor Activity of Temsirolimus in a Human Renal Cell Carcinoma Model. *Target Oncol.* 2017;12:69-79.

Furukawa J, Miyake H, Fujisawa M. GLI2 expression levels in radical nephrectomy specimens as a predictor of disease progression in patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma following treatment with sunitinib. *Mol Clin Oncol.* 2016;5:186-192.

Miyake H, Harada K, Ozono S, Fujisawa M. Prognostic Significance of Early Tumor Shrinkage Under Second-Line Targeted Therapy for Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Retrospective Multi-Institutional Study in Japan. *Mol Diagn Ther.* 2016;20:385-92.

〔学会発表〕(計 3件)

三宅秀明：転移性腎細胞癌に対する至適薬物療法：自験例に基づく考察。第105回日本泌尿器科学会総会，2017年，鹿児島。

Miyake H, Ozono S: Urological cancer: Year in review from Japan: renal cell carcinoma. 第54回日本癌治療学会総会，2016年，横浜。

三宅秀明，藤澤正人：mRCCに対する集学的治療戦略 当科におけるmRCCに対する集学的治療戦略 第104回日本泌尿器科学会総会，2016年，仙台。

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

該当なし

出願状況(計 0件)

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6．研究組織

(1)研究代表者

三宅 秀明 (MIYAKE Hideaki)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：60379435

(2)研究分担者

該当者なし

(3)連携研究者

該当者なし

(4)研究協力者

該当者なし