

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11156

研究課題名(和文)腎細胞癌における代謝リプログラミングと免疫回避の解析

研究課題名(英文)Study of metabolic reprogramming and immune evasion in renal cell carcinoma

研究代表者

釜井 隆男 (Kamai, Takao)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：80316562

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：この度の科学研究費補助金を受けて、以下のことを報告しました。1)腎細胞癌において、インターフェロン 3の特定の一塩基配列を有する癌細胞ではPD-L1の発現が高く、そのような癌細胞を有する患者では予後不良である傾向が見られます。また、癌遺伝子であるAktの発現が高い癌細胞では腫瘍誘導性にPD-L1の発現が高くなる傾向があり、このような癌細胞を有する患者では予後不良であることも確認できました。2)転写因子であるNrf2の発現が高い腎細胞癌や腎盂尿管癌では、癌が進展しやすく予後不良であることを、また、術後に慢性腎臓病を併発する可能性が高いことを見出しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌ではエネルギー代謝異常(酸素からブドウ糖へのエネルギー源のシフト)や免疫回避(免疫細胞からの攻撃をかわす)が見られますが、実際に摘出した手術組織を用いて、腎細胞癌におけるエネルギー代謝異常を、中学生で学ぶTCA回路(クエン酸回路)におけるFHやSDHの遺伝子やタンパク質の異常で解析し、また、免疫回避機構の異常をPD-L1のタンパク質の異常を検討できたことは学術的な意義があると考えます。更に、抗酸化作用も癌の抑制に関与していることが知られていますが、この抗酸化作用に中心的な役割を果たしているNrf2の遺伝子変異やタンパク発現異常が腎細胞癌の進行と関連があることも報告できました。

研究成果の概要(英文)： We investigated SNPs for IFN-lambda3 in 53 patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC). In 16 patients who were heterozygous or homozygous for the minor alleles of SNPs for IFN-lambda3, the primary tumors showed elevated glucose uptake, and increased expression of phosphorylated Akt and PD-L1. These patients had a worse response to treatment with sequential vascular endothelial growth factor-targeting therapy, and showed shorter survival compared with patients who had the major alleles.

The study included 89 patients who underwent renal surgery for RCC. In 89 patients whose tumors showed higher Nrf2 expression, there was a more rapid decrease of estimated glomerular filtration rate (eGFR) and increase of serum uric acid (SUA) after nephrectomy. Multivariate analysis confirmed that increased Nrf2 expression was an independent poor prognostic factor related to shorter overall survival.

研究分野：腎細胞癌

キーワード：腎細胞癌 代謝異常 免疫回避

## 1. 研究開始当初の背景

癌細胞では、エネルギーの供給源が酸素からブドウ糖へと変異しており、aerobic glycolysisを特徴とするWarburg効果として有名である。腎細胞癌はaerobic glycolysisが特徴であり、特にHLRCC関連腎癌はWarburg効果が顕著に認められる。HLRCCは筋腫と腎細胞癌とを主体とする常染色体優性遺伝疾患であり、原因遺伝子は1番染色体の長腕(1q43)に存在するfumarase (FH) のmutation である。FHはミトコンドリア内でのTCA回路の一部を担っており、細胞のエネルギー産生に関与している。

一方、近年、immune-oncologyなる概念が提唱されており、局所の微小環境での免疫異常が癌化や癌の進展に関与していることが報告されている。中でも、Cancer immunoediting 仮説においては、Elimination、Equilibrium、Escape の3相で様々な免疫関連分子が働くことで、癌の抑制のみならず進行にも寄与しており、免疫系は相反する二つの役割を演じていることが提唱されている。特に近年のPD-1/PD-L1経路を阻害する抗PD-1抗体や抗PD-L1抗体の登場は、腎細胞癌を含め、癌治療の大きなパラダイムシフトとなっている。

2011年にHanahanとWeinbergが提唱しているように、代謝リプログラミング(Warburg効果)と免疫回避が癌研究の大きな柱になりつつある。現に最近では、この二つを結びつける可能性が報告されている。このように、代謝リプログラミング(Warburg効果)と免疫回避の二つの観点から、腎細胞癌におけるエネルギー代謝異常と免疫異常を分子レベルで調べることは意義深いと考えている。

## 2. 研究の目的

近年、癌研究においては、aerobic glycolysis を特徴とするエネルギー代謝異常(Warburg効果)と免疫回避が新たな「Hallmarks of cancer」とされ注目されている。特に、我々は、Warburg効果が顕著に観察できるHereditary Leiomyomatosis and Renal Cell Cancer (HLRCC) 関連腎癌では、転写因子である nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2)と Akt の発現が著明に亢進していることを報告している[1]。また、Cancer immunoediting 仮説では、PD-1/PD-L1経路が癌の免疫回避に一定の役割を演じているが、PD-L1が上昇している腎細胞癌では薬剤抵抗性があり予後不良であることも報告している[2]。我々は、腎細胞癌におけるエネルギー代謝異常と免疫回避機構の分子機序の一旦を調べることを目的としている。

### 「引用文献」

- [1] Kamai T, Abe H, et al. Radical nephrectomy and regional lymph node dissection for locally advanced type 2 papillary renal cell carcinoma in an at-risk individual from a family with hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: a case report. BMC Cancer. 2016;16:232.
- [2] Fukuda T, Kamai T, et al. Higher preoperative serum levels of PD-L1 and B7-H4 are associated with invasive and metastatic potential and predictable for poor response

to VEGF-targeted therapy and unfavorable prognosis of renal cell carcinoma. *Cancer Med.* 2016;5; 1810-1820.

### 3. 研究の方法

(1) 摘出した腎癌組織を用いて、薬剤耐性と survival に関連性が高いと考えられているAkt、酸化ストレス下での転写に関わるNrf2、免疫に関連しているinterferon-lambda3、および免疫回避に関連性の高いPD-L1に関して、DNAおよびタンパク質レベルで検討する。

(2) 上記(1)に関して、個々の患者で得られた血液と手術組織での解析データの相関を調べることで、腎細胞癌におけるエネルギー代謝異常および免疫回避との相関関係を検討する。

### 4. 研究成果

インターフェロン経路とAkt経路の異常亢進状態では、腫瘍誘導性にPD-L1の発現が高くなることも報告した(研究業績1)。インターフェロンは免疫系に関与し、従来より抗ウイルス作用や抗炎症作用があることが知られているが、最近では癌の促進にも関与していることが報告されてきている。今回の研究で、インターフェロンλ3の特定の一塩基配列を示す腎細胞癌では、癌遺伝子であるAktの発現が高く(innate immune resistanceの臨床的特徴)、且つ、免疫チェックポイントで免疫抑制性に働くPD-L1の発現が高く(adaptive immune resistanceの臨床的特徴)、このような癌では生存期間が短い傾向があることが示された。このことは、インターフェロン経路の異常が癌の促進と関連性を持つことを示唆している。

また、転写因子であるnuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)の発現異常が、腎細胞癌および腎盂尿管癌の進展に関与していることを報告した(研究業績2~4)。抗酸化作用は、生体防御の観点から生命の代謝活動に必須であることが知られている。Nrf2は抗酸化作用の制御因子であるが、癌ではこのNrf2の発現異常が報告されている。今回の研究で、Nrf2のタンパク質が高発現を呈している腫瘍では、癌細胞の低分化や高進達度が見られ、予後不良であることを、腎細胞癌と腎盂尿管癌で認めた。また、Nrf2のタンパク質が高発現を呈している腫瘍では、術後に慢性腎不全(CKD)を併発する割合が高いことも見出した。一方で、Nrf2の遺伝子変異を有する腎細胞癌、Nrf2のプロモーター領域で特定の一塩基配列を示す腎細胞癌では、Nrf2のタンパク質が高発現であることも見出した。このように、Nrf2経路の異常(遺伝子変異、Nrf2のプロモーター領域での一塩基配列、タンパク質発現)は、腎細胞癌の進展と関連性を持つことを示唆された。

「研究業績」

- (1) Nukui A, Yanai Y, Tsuzuki T, Abe H, Arai K, Yoshida KI, Kamai T. Germline polymorphism of interferon-lambda3 is clinically associated with progression of renal cell carcinoma. *Oncotarget*. 2018; 9: 4188–4199. doi: 10.18632/oncotarget.23683.
- (2) Yuki H, Kamai T, Murakami S, Higashi S, Narimatsu T, Kambara T, Betsunoh H, Abe H, Arai K, Shirataki H, Yoshida KI. Increased Nrf2 expression by renal cell carcinoma is associated with postoperative chronic kidney disease and an unfavorable prognosis. *Oncotarget*. 2018; 9: 28351-28363. doi: 10.18632/oncotarget.25322.
- (3) Nukui A, Narimatsu T, Kambara T, Abe H, Sakamoto S, Yoshida KI, Kamai T. Clinically significant association of elevated expression of nuclear factor E2-related factor 2 expression with higher glucose uptake and progression of upper urinary tract cancer. *BMC Cancer*. 2018;18:493.
- (4) Yamaguchi Y, Kamai T, Higashi S, Murakami S, Arai K, Shirataki H, Yoshida KI. Nrf2 Gene Mutation and Single Nucleotide Polymorphism rs6721961 of the Nrf2 Promoter Region in Renal Cell Cancer. *BMC Cancer*. 2019;19:1137.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Nukui A, Yanai Y, Tsuzuki T, Abe H, Arai K, Yoshida KI, Kamai T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Germline polymorphism of interferon-lambda3 is clinically associated with progression of renal cell carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 4188-4199.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.18632/oncotarget.23683.	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 Yuki H, Kamai T, Murakami S, Higashi S, Narimatsu T, Kambara T, Betsunoh H, Abe H, Arai K, Shirataki H, Yoshida KI.	4. 巻 9
2. 論文標題 Increased Nrf2 expression by renal cell carcinoma is associated with postoperative chronic kidney disease and an unfavorable prognosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 28351-28363.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.18632/oncotarget.25322.	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 Nukui A, Narimatsu T, Kambara T, Abe H, Sakamoto S, Yoshida KI, Kamai T.	4. 巻 18
2. 論文標題 Clinically significant association of elevated expression of nuclear factor E2-related factor 2 expression with higher glucose uptake and progression of upper urinary tract cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 493
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1186/s12885-018-4427-1.	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 Yamaguchi Y, Kamai T, Higashi S, Murakami S, Arai K, Shirataki H, Yoshida KI.	4. 巻 19
2. 論文標題 Nrf2 Gene Mutation and Single Nucleotide Polymorphism rs6721961 of the Nrf2 Promoter Region in Renal Cell Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 1137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1186/s12885-019-6347-0.	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0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----