

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16745

研究課題名(和文)膀胱癌におけるAXLをターゲットとした新規治療戦略の確立

研究課題名(英文)Significance of AXL expression in urologic oncology.

研究代表者

箱崎 恭平(Hakozaki, Kyohei)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：70813426

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):膀胱癌は研究継続が難しく、同じく泌尿器科癌の腎癌について検討した。淡明細胞型腎細胞癌について、AXL発現は腫瘍中心部と辺縁部で相関を認め、AXL発現量と予後とも有意な相関を認めた。淡明細胞癌の転移巣におけるAXL発現は、転移巣ごとにその発現量は大きく異なっており、肺転移巣でのAXL発現は腫瘍中心部および辺縁部いずれにおいてもほとんど発現していなかった。一方、骨転移巣では腫瘍中心部および辺縁部いずれにおいてもAXL発現量が多いことが示された。非淡明型腎細胞癌におけるAXL発現は、病理組織型ごとにその発現量が大きく異なっており、Type別にAXLの関与が異なる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

手術不能な腎細胞癌、転移性腎細胞癌ではAXL等をターゲットとしたmulti kinase阻害薬であるCabozantinibがすでに臨床応用されているが、一律に腎細胞癌患者に有効というわけではない。どのような腎細胞癌にAXLをターゲットとした治療が有効であるかの基礎データを蓄積することはCabozantinibによる新規腎細胞癌治療が登場した今日において重要な事項といえよう。本研究では腎細胞癌におけるAXL発現の分布の多様性を示しており、Cabozantinibの適正利用に寄与しうるものと考えられる。

研究成果の概要(英文):Because of it was difficult to continue research in bladder cancer, we examined renal cell carcinoma(RCC), which is also a urological carcinoma.

Regarding clear cell RCC(ccRCC), AXL expression was found to be correlated between the tumor center(TC) and the invasive marginal(IM), and a significant correlation was also found between the AXL expression level and overall survival.The expression level of AXL in the metastatic lesions of ccRCC differed depending on the metastatic sites, and the AXL expression in the lung lesions was hardly expressed in both TC and IM. On the other hand, in bone lesions, it was shown that the AXL expression level was high in both TC and IM.The expression level of AXL in non-ccRCC varied greatly depending on the pathological tissue type, suggesting that the involvement of AXL may differ depending on the tissue type.

研究分野：泌尿器悪性腫瘍

キーワード：泌尿器悪性腫瘍 腎細胞癌 AXL GAS6

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2018年当時、膀胱癌の再発・進展予防ならびに転移性膀胱癌の治療に関しては、その副作用や効果の観点より、改善すべき点が多かった。具体的には、膀胱癌の再発・進展の予防に関しては、BCG膀胱内注入療法と抗癌剤膀胱内注入療法以外の有効なレジメンが乏しい。BCG膀胱内注入療法はその強い副作用が大きな問題の一つとされているが、その一方で副作用の少ない抗癌剤膀胱内注入は効果が不十分であることが問題である。転移性膀胱癌についてもシスプラチンベース以外の有効なレジメンが乏しく、さらに化学療法施行群の平均生存期間は約14ヶ月と予後不良である。Immuno-checkpoint inhibitorが登場した現在も、その状況に大きな変わりはない。したがって、膀胱癌のより治療効果の大きい再発・進展予防ならびに治療の開発は我々に課せられた急務の課題である。加えて今回、我々は、receptor tyrosine kinaseの一種であり、癌細胞の細胞膜上に発現し、癌の進展や生存にかかわるAXL(Fig.1)に着目したが、その理由としては、我々が既に上部尿路上皮癌におけるAXLの発現とその機能解明について報告している(Hattori et al, Ann Surg Oncol, 2016)ことと、当時から現在に至るまで、膀胱癌に対しAXLを直接ターゲットとした治療戦略は存在しない背景が挙げられる。AXLをターゲットとしたmulti kinase阻害剤であるCabozantinibは、すでに他癌治療において臨床の現場で使用されており、比較的円滑に臨床応用が可能な新規治療となりうる点で、本研究が臨床応用しやすい地盤にあると考えた。また、AXLはすでに腎癌の予後との相関が報告されており、膀胱癌に加え、腎癌におけるAXL発現の意義と治療応用についても検討したいと考えた。

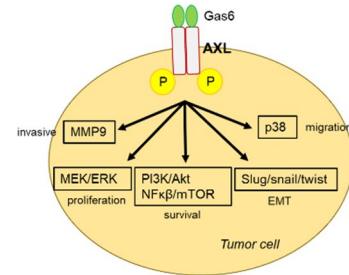


Fig.1 AXL活性化を介したシグナル経路

2. 研究の目的

今回我々は、膀胱癌、腎癌におけるAXLの発現と転移・進展・予後との関連、抗癌剤耐性機序、癌微小免疫環境に及ぼす影響を検討し、さらにAXLの制御が期待できるCabozantinibを用いた膀胱癌、腎癌に対する新規治療戦略を新たな発想のもと確立することを目的とした。AXLは膀胱癌、腎癌だけでなく、乳癌をはじめとする多くの癌に存在していることが知られている。本研究において膀胱癌、腎癌に対するAXLの役割が解明されることで、癌研究全体に及ぼす波及効果はもちろんのこと、他癌における新規治療の新たな切り口となり得るため、その影響は非常に大きく創造性に富む研究と考えた。

3. 研究の方法

当教室で作成された膀胱癌の臨床データベース及び未染のプレパラートを用いて、膀胱癌におけるAXLの発現と腫瘍の進展・予後との関連につき臨床的・組織学的検討を行う。続いて当教室で確立した各種膀胱癌細胞株を用いてAXLの発現と抗癌剤耐性、Cabozantinib投与による抗腫瘍効果、AXLの発現の変化の解析を行う。

(1) 膀胱癌におけるAXL発現の意義に関する解析

(1)- 経尿道的膀胱腫瘍切除術の際に得られた膀胱癌検体と膀胱全摘術時に得られた膀胱癌検体を用い、TMAを作成し、免疫染色でAXLの発現変化を解析し、膀胱癌進展におけるAXL発現の意義を検討する。

(1)- 当教室では浸潤性膀胱癌患者に対して膀胱全摘術前の術前化学療法を導入しており、そのレジメンとしてGC療法(GEM+CDDP)を用いている。同一患者において診断時に施行した経尿道的膀胱腫瘍切除術の際に得られた膀胱癌検体と膀胱全摘術時に得られた膀胱癌検体を用い、免疫染色でAXLの発現変化を検討し、化学療法感受性とAXLについての関連も明らかにする。

(2) ヒトおよびマウス膀胱癌細胞株に対するCabozantinibの抗腫瘍効果の検討

(2)- 膀胱癌細胞株にCabozantinibを投与し、それらの膀胱癌に与える影響を検討する。

当教室で作成された腎癌の臨床データベース及び未染を用いて、AXLの発現と腫瘍の進展・予後との関連につき臨床的・組織学的検討を行う。本TMAは原発腫瘍/転移巣(肺・骨・肝等)、術前分子標的治療歴無し/有り、淡明細胞癌/非淡明型細胞癌(乳頭状・嫌色素性腎癌)、希少腎がん(紡錘型・転座型・透析腎癌・集合管癌)を含んでいる

(3) 腎細胞癌におけるAXL発現の意義に関する解析

(3)- 淡明細胞型腎細胞癌の原発腫瘍検体を用い、TMA を作成し、免疫染色で AXL の発現変化を解析し、腎癌予後における AXL 発現の意義を検討する (Fig.2)。

(3)- 転移巣(肺・骨・肝等)切除術時の検体を用い、TMA を作成し、免疫染色で AXL の発現変化を解析し、転移巣別における AXL 発現の意義を検討する。

(3)- 非淡明型腎細胞癌(乳頭状・嫌色素性腎癌)、希少腎がん(紡錘型・転座型・集合管癌)検体を用い、TMA を作成し、免疫染色で AXL の発現変化を解析し、腎癌タイプ別における AXL 発現の意義を検討する。

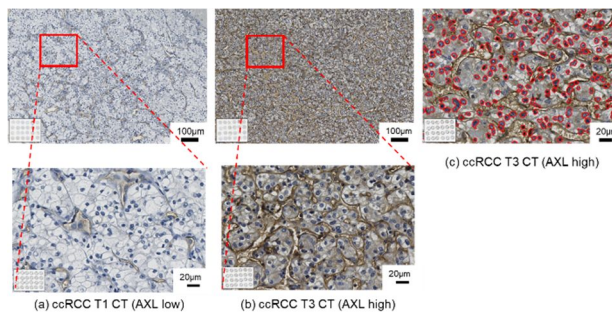


Fig.2 AXL免疫染色と自動化されたシングルセルカウント
(a)(b) AXLの免疫染色 (AXL low(a)とAXL high(b))
(c) AXL染色後、自動化シングルセルカウントで細胞(核)をカウントしている様子

4. 研究成果

(1)、(2)に関して

膀胱癌での AXL 発現を評価する予定であった TMA の作成が困難であり、また昨今の諸家の報告より AXL をターゲットとした膀胱癌治療よりも腎癌治療で有用な可能性が示唆されてきたため、2019 年度は泌尿器科癌の中でも腎癌にスポットを当て AXL 発現とその意義、治療への応用を評価するに至った(結果、成果はなし)。

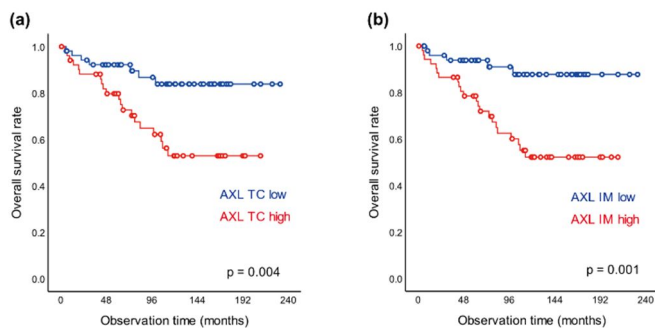


Fig.3 (a) 腫瘍中心部と(b) 腫瘍辺縁部におけるAXL発現と全生存率

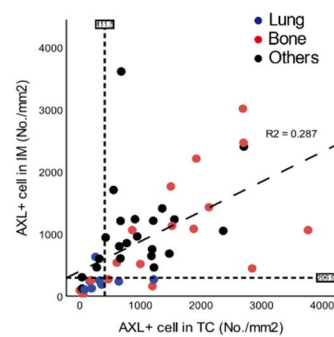


Fig.4 転移巣別の腫瘍中心部/辺縁部におけるAXL発現

(3)に関して

(3)- 淡明細胞型腎細胞癌の原発腫瘍について

淡明細胞型腎細胞癌については、AXL 発現が腫瘍中心部および辺縁部で相関を認め(相関係数 $r = 0.679$)、またその発現量は予後(全生存率)と有意に相関した (Fig.3 (a)腫瘍中心部: $p = 0.004$, (b)腫瘍辺縁部: $p = 0.001$)。また、AXL のリガンドである GAS6 についても発現量と予後との関係に同様の傾向を認めた(腫瘍中心部: $p = 0.148$, 腫瘍辺縁部: $p = 0.042$)。AXL が腎癌の予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

(3)- 転移巣(肺・骨・肝等)について

淡明細胞癌の転移巣における AXL 発現は、原発巣に比べ腫瘍中心部および辺縁部での AXL 発現量の相関は低かった(相関係数 $r = 0.287$)。また、転移巣ごとにその発現量は大きく異なっており、肺では AXL は腫瘍中心部および辺縁部いずれにおいてもほとんど発現していないことが分かった。一方、骨転移では、腫瘍中心部および辺縁部いずれにおいても AXL 発現量が多いことが示された (Fig.4)。転移性腎細胞癌では Cabozantinib が臨床応用されているが、転移部位別に効果が異なる可能性が示唆された。

(3)- 非淡明型腎細胞癌(乳頭状・嫌色素性腎癌)、希少腎がん(紡錘型・転座型・集合管癌)について

非淡明型腎細胞癌における AXL 発現は、原発巣と同様、腫瘍中心部および辺縁部での AXL 発現量の強い相関を認めた(相関係数 $r = 0.685$)。また、病理組織型ごとにその発現量は大きく異なっており、Papillary type では AXL は腫瘍中心部および辺縁部いずれにおいてもほとんど発現していないことが分かった。一方、臨床的に悪性度の高いと言われる Sarcomatoid type、Collecting duct type では、腫瘍中心部および辺縁部いずれにおいても AXL 発現量が多い傾向を認めた (Fig.5)。AXL をターゲットとした Cabozantinib は非淡明型腎細胞癌においても臨床応用が期待されるが、その Type 別に使い分けの一助になる可能性が示唆された。

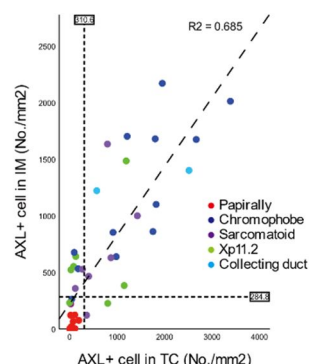


Fig.5 非淡明型腎細胞癌のType別におけるAXL発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

2020 American Urological Association Annual MeetingのPodiumセッションに採択されたが、COVID-19の影響で学会中止となった。

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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|