

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09528

研究課題名（和文）腎癌における逐次交換療法における効果予測モデルの構築：免疫複合体に注目した検討

研究課題名（英文）Development of a Predictive Model for the Efficacy of Sequential Therapy in Renal Cell Carcinoma

研究代表者

光成 健輔（Mitsunari, Kensuke）

長崎大学・病院（医学系）・講師

研究者番号：70866657

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）：腎癌の標準治療は、分子標的薬と新規免疫治療薬である。これらの逐次療法により腫瘍における血管新生と免疫反応は複雑となるため、治療効果予測モデルが重要となる。まずイムノコンプレキソーム解析法を使用し、膀胱癌においてセルロプラスミンが潜在的な尿中バイオマーカーであることを報告した。同様に腎癌の尿中バイオマーカーを同定中であるが、予備実験において腎癌および上部尿路癌においてKIBRAが癌細胞増殖を抑制することを証明した。さらに下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎癌にも着目し、臨床的な予後因子を報告した。術後補助療法においても本研究で同定予定であるバイオマーカーを用いることで最適な治療を選択できると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行性腎癌の予後は分子標的薬と新規免疫治療薬の登場により改善してきた一方で、薬剤の種類も多く、また治療薬の順序も複雑となっていることが課題である。また、これらの薬剤は非常に高価であるため、適切な治療選択および最適な順序で治療が提供できない場合、医療費も増えていく。今回の研究で用いた解析法で尿中バイオマーカーの同定が可能であり、すでに予備実験においてKIBRAが腎癌の潜在的な予測因子であることを証明した。これらの治療効果予測因子により、適切なタイミングで最適な治療薬を選択でき、患者さんへのメリットのみならず、治療効果に乏しい薬剤を回避することで医療費削減につながり医療経済の側面からも有用である。

研究成果の概要（英文）：Molecular targeted drugs and novel immunotherapeutic agents are standard treatments for renal cancer. Given the complexity of tumour angiogenesis and immune responses during these sequential therapies, predictive models for treatment efficacy are crucial. Initially, by employing "immune complexome analysis", we reported that ceruloplasmin is a potential urinary biomarker for bladder cancer. Similarly, while the identification of urinary biomarkers for renal cancer is ongoing, preliminary experiments have demonstrated that KIBRA suppresses cancer cell proliferation in both renal and upper urinary tract cancers. Additionally, focusing on renal cancer with inferior vena cava tumour thrombus, we have reported the clinical prognostic factors. We believe that using the biomarkers identified in this study for postoperative adjuvant therapy will also contribute to the selection of optimal treatments for renal cancer with inferior vena cava tumour thrombi.

研究分野：泌尿器癌（前立腺癌、腎癌）

キーワード：腎癌 免疫複合体 イムノコンプレキソーム解析法 尿中バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

進行性腎癌の治療薬として、チロシンキナーゼ阻害剤や mammalian target of rapamycin (m-TOR) 阻害剤などの分子標的治療薬と免疫チェックポイント阻害剤など Immuno-Oncology (I-O) drug が使用されるようになり、生命予後が改善している。一方、以下の問題点も指摘されている。

- (1) 最良の抗腫瘍効果が得られる逐次交換療法は不明であり、その効果予測も困難
 - (2) 逐次交換療法が進むほど、血管新生や免疫機能を含む腎癌の病態は複雑になる
 - (3) その結果、逐次交換療法における延命効果など抗腫瘍効果の予測はさらに困難
- さらには、これらの治療薬は高額であるため、治療効果予測は医療経済の面でも重要な課題となっている。そのため、最先端の機器を用いた高度で大規模な研究が世界的規模で行われ、腎癌治療の効果を予測できるモデルの構築に関する情報が発信されているが、未だに結論をみていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、腎癌の新たな病態や治療効果に関連する因子を同定し、『新たな治療効果予測モデルの構築に関する議論』に、斬新で有用性の高い情報を提供することである。具体的には「疾患に特異的な免疫反応で形成された複合体を補足、同定することにより、病態と特異的に関連する因子を同定できる新たな解析法」=『イムノコンプレキソーム (IC) 解析法』を用いて、動物モデルと腎癌患者の検体を用いた網羅的解析を行ない、以下の項目を検討する。

- (1) 数十万の因子から免疫機能や血管新生に関連する新たな腎癌の特異的関連因子を同定
- (2) 進行性腎癌患者に対し用いられる「分子標的治療薬」と「I-O drugs」について
血液や尿から各治療法の効果と関連する新たな治療効果予測因子を網羅的に検索。
分子標的治療薬と I-O drugs の治療効果関連因子について両治療薬間での差を解析。
これら治療薬の順番が、治療前後で検出される病態関連因子へ与える影響を検討。
- (3) (1, 2) で得られた結果と臨床病理学的意義や治療効果の関連を腎癌患者データで検証

3. 研究の方法

- (1) 動物モデル作成および動物組織における解析、腎癌患者の臨床検体における解析
ヌードマウスの腎皮膜下に von-Hippel Lindau (VHL) 遺伝子や組織型が異なる腎癌の cell lines (ACHN, Caki-1, Caki-2) を注入して飼育。
腎皮膜下腫瘍を摘出して後に冷却下で粉碎処理し、その抽出物で IC 解析法を行う。
と同時に、血液を採取し IC 解析を行う。その結果を の結果と比較検討する。
マウスモデルで腎癌に特異的な免疫複合体を同定し、腎癌 cell lines の遺伝的、組織学的特徴と腎癌特異因子との関連を解析。腎癌患者の検体を用いた IC 解析の結果と病理学的特徴や治療効果との関連を検討

(2) 泌尿器癌における IC 解析

- (1) と並行して、IC 解析法を用いたバイオマーカーの同定を腎癌以外の泌尿器癌において実施する。膀胱癌患者の臨床検体 (血液、尿) を用いた IC 解析の結果と病理学的特徴や治療効果との関連を検討することにより、IC 解析法の泌尿器癌における実現可能性を確認する。

(3) 腎癌における KIBRA の役割

Hippo pathway は腎癌の発癌および進行において重要な役割を果たしている。KIBRA は Hippo pathway の重要な調整因子であり、癌細胞の増殖に重要な役割を持つことが知られているが、腎癌における KIBRA の病理学的役割に関してはほとんど解明されていない。そこで、腎癌における KIBRA 発現と、細胞増殖、転移、浸潤との関連を検討し、さらに KIBRA の発現の病理学的意義と予後との関係を明らかにする。同様の方法を用いて、その他泌尿器癌においても実施し KIBRA の役割を精査する。

(4) 下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎癌

下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎癌は予後不良である。治療は薬物治療や外科的治療があり、外科的治療を先行するケースや薬剤の選択肢も多く、治療方針に関しては一定の見解が得られていない。臨床検体 (摘出標本、血液、尿) を用いて、臨床情報と病理学的特徴および予後との関係を検討する。最終的には (1) で同定したバイオマーカーとの関連を調査する。

4. 研究成果

- (1) 動物モデル作成および動物組織における解析、腎癌患者の臨床検体における解析

ヌードマウスの腎皮膜下に腎癌の cell lines を注入し動物モデルの作成を行った。腎皮膜下腫瘍を摘出、固定。マウス血液を検体とした IC 解析では測定のための至適条件設定を行っており、腫瘍組織（冷却下に粉碎処理、抽出物を IC 解析）も含めて今後解析を進める予定である。また、動物モデルへの治療介入に関しても、治療前の IC 解析を終えたのちに進めていく方針としている。腎癌患者の臨床検体に関しては、概ね採取済みである。

(2) 泌尿器癌における IC 解析

膀胱癌症例 97 名を解析した。膀胱癌患者の尿を用いて IC 解析法を実施し、Ceruloplasmin を含む 8 種類の IC-antigen が膀胱癌関連因子の候補として選択された（膀胱癌での陽性率が 30% 未満、対照群での陽性率が 50% をこえる IC-antigen を除外）。8 種類の IC-antigen と尿路再発の関係を 67 名の筋層非浸潤性膀胱癌患者で検討し、IC-serum albumin と IC-ceruloplasmin が尿路再発の有意な予測因子として同定された（図 1-A, $p=0.001$, 図 1-B, $p=0.001$ ）

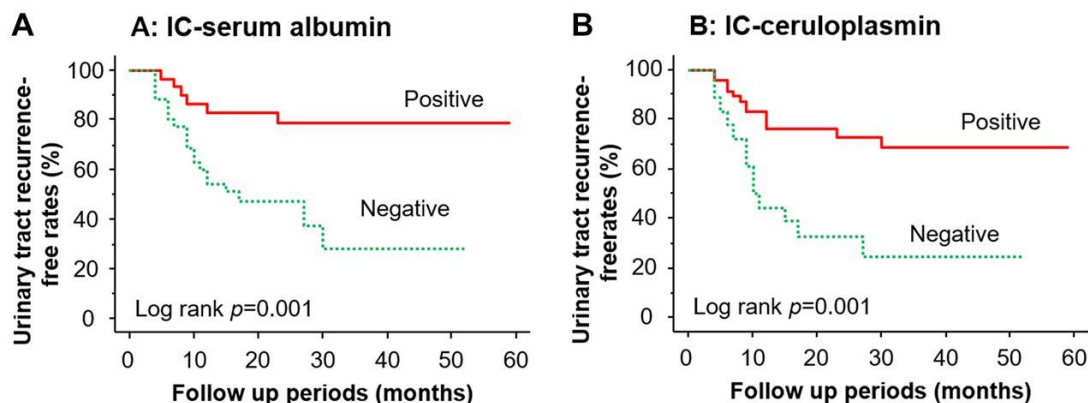


図 1 IC-serum albumin(A)と IC-ceruloplasmin(B)発現別、無再発生存率 (Kaplan-Meier 法)

IC-ceruloplasmin の陽性率は、核 Grade, T stage, invasive potential, 尿路再発のいずれにおいても対照群に比し高く正の相関があることを確認した。IC-ceruloplasmin は臨床病理学的特徴および転帰において有用な尿中バイオマーカーであることが示された。本研究により泌尿器癌において IC 解析が応用可能であることを示した。

(3) 腎癌における KIBRA の役割

腎癌症例 157 例を解析した。免疫組織化学検査を行い、KIBRA 発現と臨床病理学的特徴や全生存率との関連を調査した。また、正常腎組織 (n=50) を対照とした。すべての正常腎組織で KIBRA は中程度から高度の発現を認めた。一方で、腎癌においては明らかに低発現であった。核 Grade3/4 における KIBRA-IRS (immunoreactivity score) は 2.20 ± 1.44 , 核 Grade1 および核 Grade2 は、それぞれ 4.34 ± 1.27 , 1.95 ± 1.40 ($p < 0.001$, 図 2-A) であり負の相関を確認した。さらに T ステージおよび転移の有無においても同様に、KIBRA-IRS と負の相関を認めた ($p < 0.001$, 図 2-B, C)。腫瘍径においても負の相関を確認した。さらには KIBRA の発現が高いほど全生存率が高く、予後予測因子となることを確認した (図 3, Log rank $p < 0.001$)。

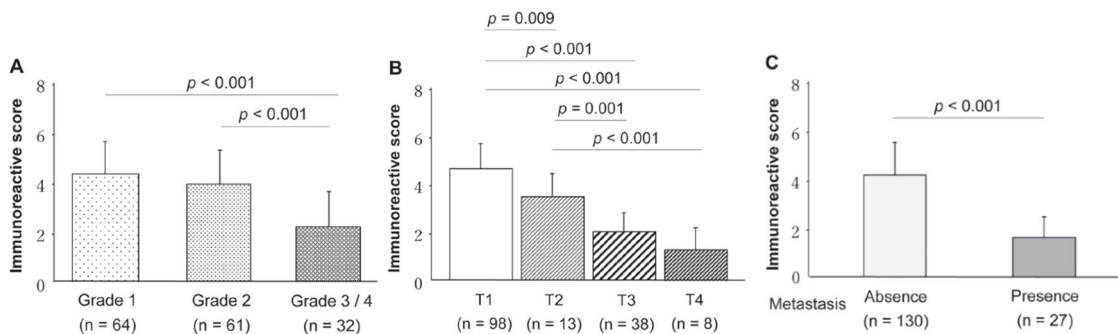


図 2 核 Grade(A)、T ステージ(B)、転移の有無(C)別における IRS (immunoreactivity score)

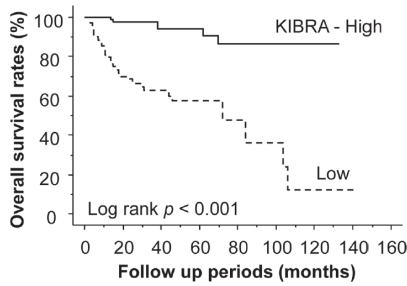


図 3, KIBRA 発現別、全生存率 (Kaplan-Meier 法)

KIBRA 発現は、腎癌における核 Grade、T stage、腫瘍径、転移と負の相関関係にある。KIBRA は腎癌患者の予後予測因子となり得る可能性が示唆された。

また、腎癌における KIBRA の役割を検討する前には、泌尿器癌である上部尿路癌でも検討しており、同様に KIBRA が癌細胞増殖を抑制することを証明した。KIBRA 陽性である場合、根治術後の尿路癌無再発生存率および尿路外の無再発生存率において良好な予測因子であることを証明し、KIBRA の病理学的意義と予後の役割に関して検証していた (図 4-A, $p=0.011$, 図 4-B, $p<0.001$)

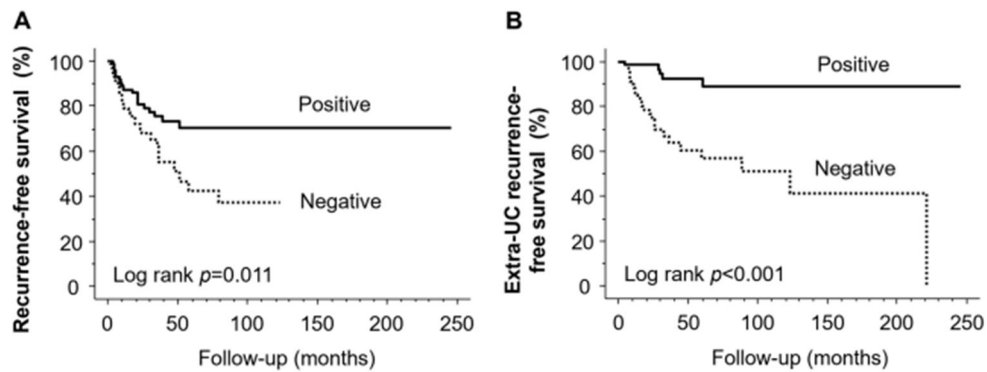


図 4 KIBRA 発現別の根治手術後の尿路癌無再発生存率(A)および尿路外の無再発生存率(B) (Kaplan-Meier 法)

(4) 下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎癌

下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎癌症例 45 名を解析した。初回手術から一度 CR (complete response) となったものの、再発と転じた予測因子を検討。予測因子として年齢、性別、最大腫瘍径、腫瘍塞栓レベル、リンパ節転移、遠隔転移、核 Grade、肉腫様変化、周囲脂肪浸潤、術前検査データ：Hgb、補正 Ca、LDH を挙げ検討した。単変量解析では腫瘍塞栓レベル、核 Grade、肉腫様変化が有意であり、多変量解析では肉腫様変化が有意な因子 ($p=0.013$) であることを示した。今後は、(1) の解析を進め、下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎癌の予後に関して、臨床病理学的から同定した予測因子の他に (1) で同定するバイオマーカーの有用性を検証する予定である。

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 3件）

1. 著者名 KURATA HIROKI, MITSUNARI KENSUKE, KONDO TSUBASA, MASATO MASAHITO, ITO HIDENORI, MUKAE YUTA, NAKAMURA YUICHIRO, MATSUO TOMOHIRO, OHBA KOJIRO, MOCHIZUKI YASUSHI, SAKAI HIDEKI, MIYATA YASUYOSHI	4. 巻 42
2. 論文標題 Pathological Significance and Prognostic Role of WWC1 in Upper Urinary Tract Urothelial Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 2311 ~ 2317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.15710	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 NAGASHIMA YOSHIAKI, MITSUNARI KENSUKE, MATSUO TOMOHIRO, NAKAMURA YUICHIRO, MIYATA YASUYOSHI, OHBA KOJIRO	4. 巻 43
2. 論文標題 Pathological Significance of Kidney and Brain Expressed Protein (KIBRA) in Clear Cell Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 45 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.16132	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 AIBARA NOZOMI, MIYATA YASUYOSHI, ARAKI KYOHEI, SAGARA YUJI, MITSUNARI KENSUKE, MATSUO TOMOHIRO, OHBA KOJIRO, MOCHIZUKI YASUSHI, SAKAI HIDEKI, OHYAMA KANAME	4. 巻 35
2. 論文標題 Detection of Novel Urine Markers Using Immune Complexome Analysis in Bladder Cancer Patients: A Preliminary Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 2073 ~ 2080
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12476	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 中西 裕美、大庭 康司郎、中村 裕一郎、安田 拓司、光成 健輔、松尾 朋博、望月 保志、宮田 康好	4. 巻 69
2. 論文標題 下大静脈腫瘍塞栓を伴う腎細胞癌に対し外科的切除を行った症例の治療成績	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 泌尿器科紀要	6. 最初と最後の頁 207 ~ 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14989/ActaUrolJap_69_8_207	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 1件）

1. 発表者名 Kensuke Mitsunari
2. 発表標題 KIBRA plays as tumour suppressor via phosphorylation of LATS-2 in conventional renal cell carcinoma tissues
3. 学会等名 36th Annual European Association of Urology (EAU) Congress 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki Kurata, Kensuke Mitsunari, Tsubasa Kondo, Hidenori Ito, Yuta Mukae, Yuichiro Nakamura, Tomohiro Matsuo, Kojiro Ohba, Yasushi Mochizuki, Hideki Sakai, Yasuyoshi Miyata
2. 発表標題 Pathological Significance and Prognostic Role of WWC1 in Upper Urinary Tract Urothelial Cancer
3. 学会等名 第74回西日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2022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	大庭 康司郎 (Ohba Kojiro) (20593825)	長崎大学・病院 (医学系)・講師 (17301)	
研究分担者	宮田 康好 (Miyata Yasuyoshi) (60380888)	長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・准教授 (17301)	

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