

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09545

研究課題名（和文）腫瘍随伴マクロファージを標的とした腎癌に対する新たな治療戦略の開発

研究課題名（英文）Development of novel treatment for renal cell carcinoma targeting tumor associated macrophage

研究代表者

原 勲（Hara, Isao）

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：10263378

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：根治的腎摘除術を施行した淡明腎細胞癌患者92例を対象とした。対象患者の年齢は中央値64歳、男性が58例（63%）であった。病理学的病期、微小血管浸潤、腫瘍浸潤様式は、それぞれ有意に術後再発と相関していた。免疫組織染色において腫瘍関連マクロファージ（TAM）の多寡と術後再発および全生存率において有意な差は認められなかった。術後再発に寄与する因子について多変量cox比例ハザードモデルを用いて検討を行ったところ、異型度のみが有意な因子として同定された（ $p<0.01$ ）。遺伝子解析が可能であった43例に関しては、DNAJB8発現の有無が、術後再発に寄与する傾向を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬の進歩により腎細胞癌患者の予後は飛躍的に改善したが、いまだに十分とは言えない。今回われわれは腎細胞癌の発育および進展に腫瘍内浸潤マクロファージ（TAM）および癌幹細胞がどのような影響を与えているのかにつき検討した。残念ながらTAMの多寡と術後の再発については有意な関連は見出せなかったが、癌幹細胞の発現は予後に影響を与える可能性について見出すことができた。今後は癌幹細胞を標的とした治療の発展が望まれる。

研究成果の概要（英文）：Ninety-two patients with renal cell carcinoma who underwent radical nephrectomy were included in the study. The median age of the patients was 64 years, and 58 (63%) were male. Pathologic stage, microvascular invasion, and mode of tumor invasion were each significantly correlated with postoperative recurrence. Immunohistochemistry showed no significant difference between tumor-associated macrophages (TAM) abundance and postoperative recurrence or overall survival. When factors contributing to postoperative recurrence were examined using a multivariate cox proportional hazards model, only atypia was identified as a significant factor ($p<0.01$). For the 43 patients for whom genetic analysis was available, DNAJB8 expression was found to contribute to postoperative recurrence.

研究分野：泌尿器科

キーワード：腎細胞癌 腫瘍内浸潤マクロファージ 癌幹細胞

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腎癌は放射線治療や抗がん剤などの薬物療法が無効とされる難治性癌とされてきた。近年、分子標的薬や抗 PD1 抗体などの Immuno-check point 阻害剤が有用であることが示され注目を集めているが、完全寛解に至る症例は稀でありさらなる治療の開発が望まれる。

癌の発育や進展に関して癌細胞を取り巻く微小環境の重要性が近年注目を集めている。我々は腫瘍微小環境の中でも腫瘍随伴マクロファージ (Tumor-associated macrophage: TAM) に注目し研究を行ってきた。マクロファージは M1 型と M2 型に分けられ、M1 型は病原体や寄生虫感染防御に働く一方、M2 型マクロファージは組織常在性単球が IL-4 や IL-13 など Th2 型サイトカインを受けて分化し、組織修復などにかかわるといわれている。TAM の多くは M2 型と言われており抗腫瘍免疫を抑制し癌細胞の浸潤、増殖に関与している。我々は根治的腎摘除術を受けた腎癌患者の摘出標本中の TAM の浸潤が強く認められた症例では術後の再発率が高いことを見出した。またその機序の一つとして血管新生が関与していることを報告した(文献 1)。

一方、我々は癌幹細胞に着目し研究を進めてきた。癌幹細胞は自己複製により自分と同じ細胞を維持しながら、分化によって周辺の大多数のがん細胞を生み出すもとなっている。我々は HSP40 family の一つである DnaJ (HSP40) homolog, subfamily B, member 8 (DNAJB8) に着目し研究を重ねてきた。フローサイトメトリーを用いた Hoechst 33342 染色により癌幹細胞集団を side population (SP) 細胞として分離したところ DNAJB8 が SP 細胞に特異的に発現していることを見出した。この DNAJB8 を knock-down させたヒト腎癌細胞株 RenCa では造腫瘍能の著明な低下を認めたことから本分子が癌幹細胞の機能維持に重要な役割を果たしていることを報告した(文献 2)。

近年、結腸癌や乳癌、膵臓癌などにおいて種々の分子機構を介して TAM が癌幹細胞を活性化することが報告されている。本研究では腎癌における TAM や癌幹細胞が再発や予後に与える影響について明らかにしたい。研究代表者は過去において腎癌に関して TAM と癌幹細胞双方に関しての研究を続けてきており本研究を遂行するバックグラウンドを有していると自負している。

2. 研究の目的

研究の目的は腎癌において癌幹細胞と TAM が再発や予後に対してどのような影響をあたえているかにつき明らかにすることである。アプローチとしては(1) 腎癌摘出材料を用いて免疫組織学的手法により癌幹細胞と TAM の発現の程度および局在を明らかにし、相互の関連を解析するとともに臨床病理学的背景および患者の予後との関連を調べる。

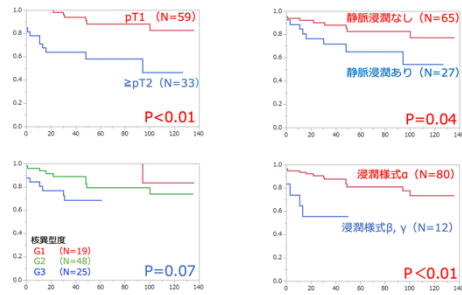
3. 研究の方法

本研究では、腎癌患者の手術検体(使用に関して倫理委員会の承認済み)を用いる。TAM に関しては以前の我々の検討で用いた CD68 に対する抗体以外に M2 マクロファージに特異的な CD163 や CD204 に対する抗体も用いる。癌幹細胞の同定に関しては DNAJB8 に対する RT-PCR にて発現量を調べる。さらに腫瘍内新生血管に特異的な抗原(CD34 や factor VIII 関連抗原)に対する免疫組織学検討も加える。こうして得られた TAM、癌幹細胞、腫瘍内新生血管に対する情報をもとに相互の関連および腫瘍の病理組織学的因子および患者の予後との関連について解析する。

4. 研究成果

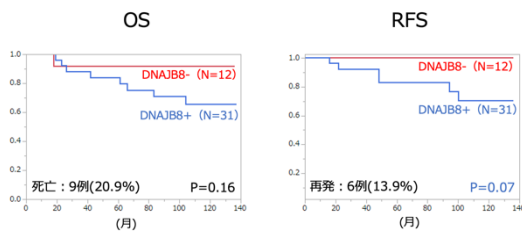
2008 年 5 月から 2017 年 11 月までに、当科にて根治的腎摘除術を施行した淡明腎細胞癌患者 92 例を対象とした。対象患者の年齢は中央値 64 歳(四分位:57-73 歳)、男性が 58 例(63%)であった。観察期間の中央値は 49 ヶ月(四分位:34-102 ヶ月)、病理学的病期はそれぞれ pT1:59 例(64%)、pT2:12 例

図1 病理学的因子別にみたRFS



発と有意な相関を認めなかったが、全生存率において高値群が不良な傾向を示した。術後再発に寄与する因子について多変量 cox 比例ハザードモデルを用いて検討を行ったところ、異型度のみが有意な因子として同定された(p<0.01)。

図2 DNAJB8の発現で見たOS、RFS



(13%)、pT3:20 例(22%)、pT4:1 例(1%)、異型度は G1:19 例(21%)、G2:48 例(52%)、G3:25 例(27%)、微小血管浸潤を 27 例(29%)に認めた。腫瘍浸潤様式は $\text{INF } \alpha$:80 例(87%)、 β :11 例(12%)であった。病理学的病期、微小血管浸潤、腫瘍浸潤様式は、それぞれ有意に術後再発と相関していた(図 1)。免疫組織染色において TAM の多寡と術後再発および全生存率において有意な差は認められなかった。CD34 陽性細胞の専有面積は、術後再

また、遺伝子解析が可能であった 43 例に関しては、DNAJB8 発現の有無が、術後再発に寄与する傾向を認めた(図 2)。

以上より根治的腎摘除術症例において腫瘍関連マクロファージと予後との間に有意な関連は認められなかったが、DNAJB8 の発現は術後再発と相関する傾向を認めた。

引用文献

1. Toge H, Hara I. Angiogenesis in renal cell carcinoma: the role of tumor-associated macrophages. *Int J Urol.* 2009;16(10):801-7.
2. Nishizawa S, Hara I, (19 名中 18 番目) et al. HSP DNAJB8 controls tumor-initiating ability in renal cancer stem-like cells. *Cancer Res.* 2012;72(11):2844-54.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小池宏幸
2. 発表標題 腫瘍内マクロファージと癌幹細胞マーカーが根治的腎摘除術の再発に与える影響
3. 学会等名 第33回日本バイオセラピー学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村岡聡
2. 発表標題 腫瘍内マクロファージと癌幹細胞マーカーが根治的腎摘除術の再発に与える影響
3. 学会等名 第34回日本バイオセラピー学会
4. 発表年 2021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	若宮 崇人 (WAKAMIYA Takahito) (50794400)	和歌山県立医科大学・医学部・助教 (24701)	

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