

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592395

研究課題名(和文) 進行性腎細胞癌に対する Lexatumumab 併用テムシロリムス療法の開発

研究課題名(英文) Development of lexatumumab in combination with temsirolimus against advanced renal cell carcinoma

研究代表者

呉 秀賢 (WU, XIUXIAN)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：10346645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：難治性・進行性腎癌に対する抗TRAIL受容体抗体併用テムシロリムス療法の開発研究を行った。その結果、(1)抗TRAILデスレセプター2に対するモノクローナル抗体Lexatumumabと新規分子標的薬テムシロリムスとの併用による相加効果を認めた。(2)抗TRAILデスレセプター1に対するモノクローナル抗体Mapatumumabと低濃度のエビルピシンやテラルピシンとの併用抗腫瘍化学療法による相乗効果を見出した。これはカスパーゼカスケードの活性化を介したアポトーシス誘導によるものであることを証明した。(3)Mapatumumabとタンパク質合成阻害剤アニソマイシンとの併用療法による相乗効果も見出した。

研究成果の概要(英文)：Development of anti-TRAIL receptor antibody in combination with temsirolimus against advanced renal cell carcinoma was performed. We found: (1) anti-TRAIL death receptor 2 antibody lexatumumab in combination with a new molecular targeted drug temsirolimus had an additive cytotoxic effect, although there was no synergistic effect; (2) anti-TRAIL death receptor 1 antibody mapatumumab in combination with clinically achievable concentrations of epirubicin or pirarubicin had a synergistic cytotoxic effect; the synergistic effect was due to apoptosis via activation of the caspase cascades; (3) mapatumumab in combination with a protein inhibitor anisomycin had a synergistic cytotoxic effect.

研究分野：医歯薬学

キーワード：lexatumumab TRAIL-R2 腎癌細胞 テムシロリムス mapatumumab TRAIL-R1 apoptosis

## 1. 研究開始当初の背景

腎癌は成人に発生する腎悪性腫瘍としてはもっとも頻度の高いものである。新規診断例は米国では毎年5万人、日本でも毎年1万人を超えている。死亡数も増加しており、泌尿器科分野では注意すべき癌腫となっている。従来より、進行性腎癌に対してIFN- $\alpha$  やIL-2等の免疫療法が行われているが、その有効率は10-15%と満足すべきものではない。また、細胞の成長・増殖および血管新生に關与する細胞内シグナル伝達経路を調節するmTORの選択的阻害剤であるテムシロリムスなどの新規分子標的薬はIFN- $\alpha$ より生存期間延長が見られる。しかし、その生存延長期間は短期的でありで、決して満足すべきものではない(Motzer et al., J Clin Oncol 26: 289, 2009)。

一方、腫瘍壊死因子関連アポトーシス誘導リガンド(TRAIL)は腫瘍壊死因子ファミリーに属し、主にDeath receptor 4(DR4/TRAIL-R1)及びDR5(TRAIL-R2)を介して癌細胞のみにアポトーシスを誘導し正常細胞には影響がないと報告されている(Lawrence et al., Nat Med, 7: 383-5, 2001)。TRAILがDR4またはDR5に結合すると、外因性及び内因性カスパーゼカスケードを介して標的細胞に対してアポトーシスを誘導する。

我々はTRAIL-R1及びTRAIL-R2に対するヒトアゴニストモノクローナル抗体Mapatumumab及びLexatumumabを米国Human Genome Science, Inc.より提供され、これら2種の抗TRAIL受容体抗体が腎癌細胞に対してagonisticに作用し、TRAILより強力にアポトーシスを誘導することを見出した(Zeng et al., Int J Oncol, 28: 421-30, 2006)。

SCIDマウス及びヌードマウス腎癌移植モデルにおけるin vivoでの抗腫瘍効果も確認した。腎癌細胞以外でも膀胱癌及び前立腺癌細胞においてin vitroでの抗腫瘍効果を確認している(Shimada et al., Urology, 69: 395-401, 2007)。また、低濃度のアドリマイシンによる腎癌細胞におけるDR4を介したアポトーシス及び細胞障害活性の増強も報告している(Jin et al., J Urol, 177: 1894-9, 2007)。さらに、低濃度のシスプラチンは腎癌細胞のみならず、前立腺癌、膀胱癌、肺癌、子宮癌等の固形癌細胞に対してもTRAIL-R2発現誘導を介してアポトーシス誘導増強作用を有することを発見した(Wu & Kakehi, Clin Cancer Res, 15: 2039-2047, 2009)。しかし、腎細胞癌に対する抗TRAIL受容体抗体併用分子標的薬療法の抗腫瘍効果については不明である。

mTORの選択的阻害剤であるテムシロリムスは、本邦では唯一腎癌に対して使用されている注射型分子標的薬であるため、本研究課題ではテムシロリムスを用いた。予備研究で、テムシロリムスは腎癌細胞におけるTRAIL-R2発現増加効果を有することが示された。我々のこれまでの研究から、腎癌細胞においてはTRAIL-R2の発現が高頻度でかつテムシロリムスによるDR5発現増強効果が認められ、抗ヒトTRAIL-R2アゴニストモノクローナル抗体Lexatumumabとテムシロリムス併用による相乗的な抗腫瘍効果が大きいと期待できる。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでに我々が蓄積してきた成果を基盤として、主として抗ヒトTRAIL-R2アゴニストモノクローナル抗体

Lexatumumab 併用テムシロリムス療法の抗腫瘍効果を検討し、進行性腎癌に対する新たな抗癌薬物療法の開発を目的とする。さらに、抗ヒト TRAIL-R2 アゴニストモノクロナール抗体併用分子標的薬療法の分子機構を明らかにする。

### 3. 研究の方法

テムシロリムスが腎癌細胞における TRAIL-R2 の発現に与える影響を RT-PCR やフローサイトメトリー等を用いてメッセンジャー RNA、タンパクレベルで解析する。種々の濃度の抗ヒト TRAIL-R2 アゴニストモノクロナール抗体 Lexatumumab 単剤、テムシロリムス単剤、2 剤併用による抗腫瘍作用を MTT アッセイで測定し、併用効果は Isobolography で解析した。

### 4. 研究成果

(1) 腎癌株化細胞 ACHN と腎癌組織より作製した初期腎癌細胞をフローサイトメトリーで解析したところ、テムシロリムス処理により、TRAIL-R2 発現増強が認められた。しかし、Lexatumumab とテムシロリムスとの併用による相加効果を認めたものの、相乗効果は認められなかった。

(2) 膀胱癌細胞において、抗 TRAIL-R1 に対するモノクロナール抗体 Mapatumumab と臨床的投与可能な低濃度のエピルピシンやテラルピシンの併用抗癌化学療法による相乗効果を見出し認めた。また、膀胱癌細胞における TRAIL-R1 の mRNA とタンパク発現はエピルピシン処理により明らかに増加された。さらに、Mapatumumab とエピルピシン併用処理による膀胱癌細胞におけるカスパーゼ 8, 9, 3 活性増強が認められた。以上の結果より、

エピルピシンは膀胱癌細胞における TRAIL-R1 発現増加により Mapatumumab を介したアポトーシス誘導を増強すると考えられる。また、膀胱癌に対してエピルピシンと Mapatumumab との併用治療の有用性が示唆された。

(3) Mapatumumab とタンパク質合成阻害剤 アニソマイシンの併用療法による相乗効果も見出した。さらに、アニソマイシンと Mapatumumab 併用処理による腎癌細胞におけるカスパーゼ 3 の活性増強効果も認められた。この併用効果は TRAIL-R1 依存的なカスパーゼ活性増強によるものであることが確認された。腎癌に対するアニソマイシンと Mapatumumab との併用治療の実用化の可能性が高いと考えられる。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

Yamasaki E, Yamada C, Jin X, Nair GB, Kurazono H, Yamamoto S. Expression of marA is remarkably increased from the early stage of development of fluoroquinolone-resistance in uropathogenic Escherichia coli. J Infect Chemother 21: 105-9, 2015 査読有り

Aikawa K, Miyawaki T, Hitaka T, Imai YN, Hara T, Miyazaki J, Yamaoka M, Kusaka M, Kanzaki N, Tasaka A, Shiraiishi M, Yamamoto S. Synthesis and biological evaluation of novel selective androgen receptor modulators (SARMs). Bioorg Med Chem 23: 2568-78, 2015 査読有り

Ahmed SM, Wu X, Jin X, Zhang X, Togo Y,

Suzuki T, Li Y, Kanematsu A, Nojima M, Yamamoto S, Sugimoto M, Kakehi Y. Synergistic induction of apoptosis by mapatumumab and anthracyclines in human bladder cancer cells. *Oncol Rep* 33: 566-572, 2015 査読有り

東郷容和, 嶋谷公宏, 花咲毅, 楊東益, 中西裕佳子, 長澤誠司, 橋本貴彦, 白石裕介, 田岡利宜也, 鈴木透, 呉秀賢, 樋口喜英, 兼松明弘, 野島道生, 土橋一成, 牧野雄樹, 清水洋祐, 金丸聰淳, 河野有香, 松敬優, 宇都宮紀明, 伊藤哲之, 川喜田睦司, 山本新吾. 転移性腎癌におけるスニチニブ2週投与1週休薬投与法の安全性と有効性. *泌尿器科紀要* 60: 209-214, 2014 査読有り

加藤琢磨, 内藤宏仁, 土肥洋一郎, 松岡祐貴, 矢野敏史, 呉秀賢, 平間裕美, 林田有史, 上田修史, 杉元幹史, 箕善行. 前立腺癌小線源療法術後の下部尿路症状に対するナフトピジル予防投与の有用性の検討. *日本腎泌尿器疾患予防医学研究会誌* 21: 116-118, 2013 査読有り

Wu XX, Jin C, Inui M, Sugimoto M, Kakehi Y. Delineation of apoptotic genes for synergistic apoptosis of lexatumumab and anthracyclines in human renal cell carcinoma cells by polymerase chain reaction array. *Anti-cancer Drugs* 23: 445-454, 2012 査読有り

Li Y, Jin X, Li J, Jin X, Yu J, Sun X, Chu Y, Xu C, Li X, Wang X, Kakehi Y, Wu X. Expression of TRAIL, DR4, and DR5 in bladder cancer: correlation with response to adjuvant therapy and implications of

prognosis. *Urology* 79: 968. e7-15, 2012 査読有り

[学会発表] (計9件)

呉秀賢, 李永男, 金星華, 東郷容和, 鈴木透, 橋本貴彦, 山田祐介, 兼松明弘, 野島道生, 箕善行, 山本新吾. 腎癌細胞に対するアニソマイシンと

Mapatumumab 併用による相乗的な抗腫瘍効果 Synergistic cytotoxicity of

Anisomycin and Mapatumumab against

renal cancer cells. 第103回日本泌尿器科学会総会 2015. 4. 18-21 石川県立音楽堂・ANA クラウンプラザホテル金沢(金沢)

鈴木透, 山田祐介, 東郷容和, 呉秀賢, 兼松明弘, 野島道生, 山本新吾. 兵庫医科大学病院におけるRALP初期成績について. 第28回日本泌尿器内視鏡学会総会 2014. 11. 26-28 ヒルトン福岡シーホーク(福岡)

東郷容和, 上田康生, 鈴木透, 相原衣江, 呉秀賢, 兼松明弘, 古倉浩次, 野島道生, 山本新吾. TUEBにおける術後有熱性尿路性器感染症発生頻度. 第28回日本泌尿器内視鏡学会総会 2014. 11. 26-28 ヒルトン福岡シーホーク(福岡)

兼松明弘, 樋口喜英, 東郷容和, 呉秀賢, 鈴木透, 野島道生, 山本新吾. 3D腹腔鏡下腎盂形成術. 第28回日本泌尿器内視鏡学会総会 2014. 11. 26-28 ヒルトン福岡シーホーク(福岡)

呉秀賢, アハメド, 箕善行, 金星華, 橋本貴彦, 東郷容和, 鈴木透, 野島道生, 兼松明弘, 山本新吾. 膀胱癌細胞におけるエピルピシンによるDR4発現誘導を介したMapatumumabのアポトーシス増

強. 第 79 回日本泌尿器科学会東部総会  
2014. 10. 12-14 パシフィコ横浜 (横浜)  
呉秀賢, 李永男, 鈴木透, 東郷容和, 橋  
本貴彦, 兼松明弘, 野島道生, 笈善行,  
山本新吾. 腎癌細胞に対するアノソマイ  
シンは Mapatumumab による抗腫瘍効果  
を増強するか. 第 52 回日本癌治療学会集  
会 2014. 8. 28-30 パシフィコ横浜(横浜)

東郷容和, 橋本貴彦, 島谷公宏, 花咲毅,  
長澤誠司, 鈴木透, 呉秀賢, 樋口喜英,  
兼松明弘, 野島道生, 山本新吾. 転移性  
腎癌におけるスニチニブ 2 週投与 1 週休  
薬投与法の安全性と有効性. 第 52 回日本  
癌治療学会集会 2014. 8. 28-30 パシフィ  
コ横浜 (横浜)  
橋本貴彦, 島谷公宏, 花咲毅, 長澤誠司,  
東郷容和, 鈴木透, 呉秀賢, 樋口喜英,  
兼松明弘, 野島道生, 山本新吾. 当院に  
おける浸潤性膀胱癌の動注化学療法・動  
注化学療法併用放射線治療成績の臨牀的  
検討. 第 102 回日本泌尿器科学会総会  
2014. 4. 24-26 神戸国際会議場・神戸国際  
展示場・神戸ポートピアホテル (神戸)  
呉秀賢, アハメド, 杉元幹史, 鈴木透,  
樋口喜英, 野島道生, 兼松明弘, 山本新  
吾, 笈善行. 膀胱癌細胞に対するエピル  
ビシンと Mapatumumab 併用によるアポ  
トーシス誘導の増強. 第 51 回日本癌治療  
学会 2013. 10. 24-26 国立京都国際会  
館・グランドホテル京都 (京都)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

呉 秀賢 (WU, Xiuxian)  
兵庫医科大学・医学部・講師  
研究者番号：10346645

### (2) 研究分担者

鈴木 透 (SUZUKI, Toru)  
兵庫医科大学・医学部・講師  
研究者番号：00441296  
兼松 明弘 (KANEMATSU, Akihiro)  
兵庫医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：90437202  
山本 新吾 (YAMAMO, Shingo)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：80322741