

令和元年6月21日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11341

研究課題名(和文)肝芽腫におけるmTOR細胞内シグナル発現機構の解明とラパマイシン治療法の開発

研究課題名(英文)Elucidation of the signal expression mechanism in the mTOR cell and development of the rapamycin treatment in the hepatoblastoma

研究代表者

荒井 勇樹 (Arai, Yuhki)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：50643243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：当院における過去30年の肝芽腫症例27例を検討したところ、組織標本のmTOR (Ser2448)抗体による免疫染色の結果と症例の予後や生物学的悪性度などの臨床データとを比較して、悪性度と免疫染色により得られたLabeling indexの値が相関している傾向が認められた。十分な有意差を見出すまでの症例数には至らなかったが、肝芽腫の発生において、PI3K/Akt/mTOR経路が関与していると考えられ、mTORシグナルリング経路を阻害する薬剤が、将来的な肝芽腫の治療薬となりえ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

小児における肝芽腫の発生例は成人と比較して少数であるため、十分な症例数を集めることは困難であったが、その中でも、肝芽腫の生物学的悪性度とmTOR蛋白発現には正の相関があることが示唆された。小児の肝芽腫の治療薬としてmTORシグナル経路における阻害薬は、その癌の発生抑制に関与している可能性があり、今後も効果的な治療薬の開発において本研究を進めていく必要がある。

研究成果の概要(英文)：After examining 27 hepatoblastoma cases in our hospital for the past 30 years, I compared the clinical data such as the prognosis and the biological malignancy with the result of the immunostaining due to the mTOR (Ser2448) antibody of the preparation, and the tendency that a value of provided Labeling index related to was recognized by a malignancy and immunostaining. It did not lead to number of cases before finding enough significant difference, but, in the expression of hepatoblastoma, it is thought that PI3K/Akt/mTOR course participates, and the possibility that the drug which inhibited mTOR signaling course could become the therapeutic agent of the hepatoblastoma in the future was suggested.

研究分野：小児外科

キーワード：肝芽腫 小児 mTOR ラパマイシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳類などの動物において細胞内シグナル伝達に関与するタンパクキナーゼの中で、ラパマイシンの標的分子として発見された mTOR 伝達系シグナルは、肝芽腫の高リスク群症例において、癌細胞の成長に関与していることが示唆されている。mTOR は、ストレス、飢餓、成長因子、栄養素などの刺激を受け、細胞の増殖、分化を促進する細胞内シグナル伝達系を形成している。mTOR シグナル伝達系において、mTOR タンパクは mTOR 複合体 1 と複合体 2 の 2 種類のタンパクから構成されている。mTOR 複合体 1 が翻訳開始因子複合体の一つ eIF4E に結合して翻訳開始因子複合体の形成を阻害する 4E-BP1 をリン酸化して、eIF4E との結合から解放することで、翻訳開始因子複合体の形成を促進して、mRNA から蛋白の翻訳を促進する。このような翻訳開始因子複合体に翻訳開始を依存する蛋白は、c-myc、cyclin D などの特定の増殖関連遺伝子産物であることがわかっている。ラパマイシンは mTOR 複合体 1 に特異的に結合して、そのキナーゼ活性を抑制する作用を持っている。その mTOR 拮抗作用が、その癌の抑制効果がある事が近年注目され、ラパマイシンが将来的な肝芽腫の治療薬になる可能性が期待される。

人の肝組織はホルモン感受性が高いことに着眼し、肝臓がんにおける性ホルモンの効果を調べた研究もある。タモキシフェンといった乳がんの治療薬として用いられているエストロゲン受容体拮抗薬であるが、肝芽腫のセルラインである HepG2 を用いた研究で、がん細胞をアポトーシスに導く転写レベルと PI3K/Akt/mTOR 経路に依存した転写後レベルにおけるサーバイピンをダウンレギュレーションさせる効果があることが示唆された(Renhua Guo, et al. Biomedicine & Pharmacotherapy 64:249-253,2010)。癌細胞における mTOR シグナルの解明が、さらにはそれに関わるタンパクの阻害薬をみつけることで、新たな治療薬の発見につながることを示唆している。これを小児の肝芽腫における mTOR シグナリングの関与とそのメカニズムを解明し、先の新たな治療への発展を見いだすことを期待している。

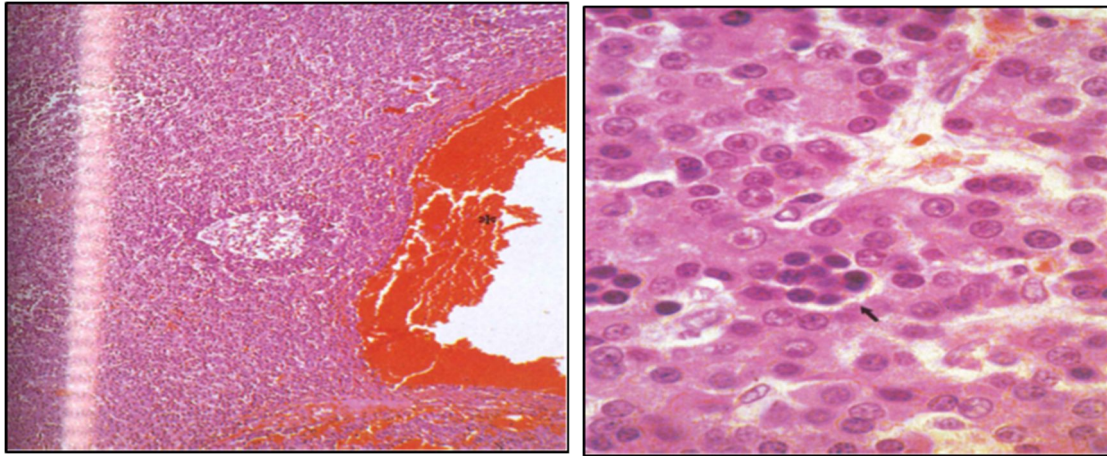
2. 研究の目的

小児における固形腫瘍の中で肝悪性腫瘍は、3~4%を占めており、その 90%を肝芽腫が占めている。肝芽腫進行例の予後は、現在でも不良であり、新しい治療の開発が急務となっている。mTOR(mammalian target of rapamycin)シグナル伝達系は、肝芽腫の高リスク群症例において、癌細胞の成長に関与している事が示唆されている(Ferdinand Wagner, et al. European Journal of Cancer 48: 2442-2450, 2012)。本研究は、肝芽腫における m-TOR シグナル系の解析より、肝芽腫における mTOR シグナル系の関与を分子生物学的に解明し、mTOR シグナル系を阻害するラパマイシンを含めた種々の拮抗薬を今後の新しい治療法として開発するもので、新たな治療戦力として大きな成果が期待できる。これまでの肝芽腫における我々の研究予備実験結果をもとに、さらに研究成果を進展させ、ラパマイシンの癌化抑制の作用機序に関するエビデンスを確立するものである。

3. 研究の方法

データの解析と集積を再度行い、対象症例を後方視的に検討する。新規症例も随時追加する。免疫学的組織染色法を用いて、mTOR の解析データとしてエビデンスを集積する。また、他の異常タンパクの発現も追加してデータを集積する。また、凍結保存された組織も一部の症例には存在するため、その組織内のタンパクのウェスタンブロット法を用いたデータ解析を追加する。3年間で集積した臨床データと実験データをもとに、肝芽腫における mTOR シグナルの解析、また癌化のメカニズム解析を行い、ラパマイシンなどを用いた新しい薬物治療の開発の手がかりを探求していく。

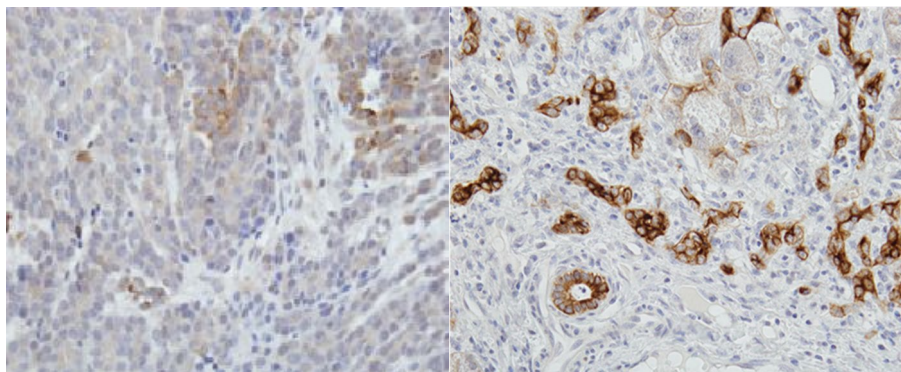
4. 研究成果



肝芽腫組織：

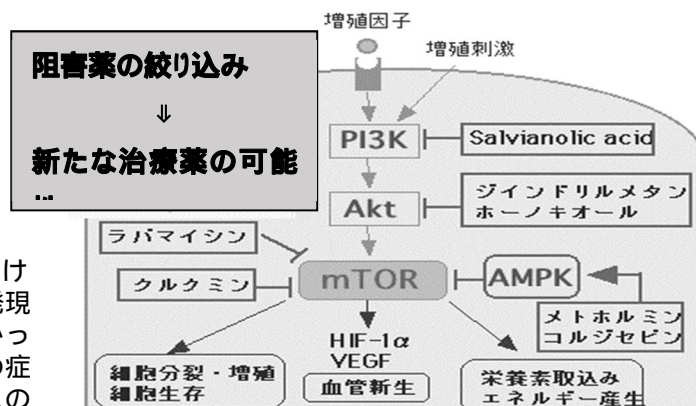
胎生期の肝組織に類似した構造を示す。vascular lake を認める。

腫瘍細胞は、小型の円形核、不明瞭な核小体、好酸性の胞体を有する。また、髄外造血巣を認める。



症例において mTOR の発現形態が異なることが判明した。生物学的に悪性度の高い症例において mTOR タンパクが高発現を示している可能性が示唆された。

当院における過去 30 年の肝芽腫症例 27 例を検討したところ、組織標本の mTOR(Ser2448)抗体による免疫染色の結果と症例の予後や生物学的悪性度などの臨床データとを比較して、悪性度と免疫染色により得られた Labeling index の値が相関している傾向が認められた。悪性度の高い肝芽腫症例における腫瘍細胞において mTOR 抗体が発現されている傾向があることが分かったが、十分な有意差を見出すまでの症例数には至らなかった。しかし、この結果は肝芽腫の発生において、PI3K/Akt/mTOR 経路が関与していると考えられ、mTOR シグナリング経路を阻害する薬剤が、将来的な肝芽腫の治療薬となりえる可能性が示唆された。



臨床データの解析もさらに詳細に行うことで、今回の結果との有意差が認められる結果が出た可能性はあり、詳細な統計解析も進めていきたいと考える。さらなる症例の蓄積と今回の研究では進められなかったウェスタンブロット法による解析、ヒト肝癌モデルを用いた mTOR 阻害薬の効能の評価を課題として、今後も引き続き研究を続けていきたいと考えている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

齋藤浩一、窪田正幸、木下義晶、小林隆、荒井勇樹、大山俊之、横田直樹、肝間葉性過誤腫に対し硬化療法による腫瘍縮小後に腫瘍核出術を施行した 1 例、日本小児外科学会誌、83-88、2019、DOI : https://doi.org/10.11164/jjps.55.1_83

荒井勇樹、窪田正幸、小林隆、大山俊之、横田直樹、胆道閉鎖症の術後 39 年目に発生した肝細胞癌と肝内胆管癌の同時性重複癌の 1 例、日本小児外科学会誌、52、1303-1308、2016、DOI : https://doi.org/10.11164/jjps.52.7_1303

〔学会発表〕(計 3 件)

Yuhki Arai, Masayuki Kubota, Yoshiaki Kinoshita, Takashi Kobayashi, Toshiyuki Ohyama, Naoki Yokota, Koichi Saito, Haruko Iwabuchi, Chihaya Imai, Hiroyuki Kawashima, Yoriko Nakajima, A neonatal case of sacrococcygeal teratoma in the right buttock pathologically resembling neuroblastoma、第 60 回日本小児血液・がん学会学術集会、2018 年

荒井勇樹、窪田正幸、大山俊之、横田直樹、齋藤浩一、腎原発 Ewing 肉腫の一例、日本血液がん学会、2017 年

荒井勇樹、窪田正幸、大山俊之、横田直樹、当院における 35 歳以上の自己肝長期生存例の現状、胆道閉鎖研究会、2016 年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：松田 康伸

ローマ字氏名：Matuda Yasunobu

所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学総合病院
職名：講師
研究者番号（8桁）：40334669

研究分担者氏名：小林 隆
ローマ字氏名：Kobayashi Takashi
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学系
職名：准教授
研究者番号（8桁）：40464010

研究分担者氏名：窪田 正幸
ローマ字氏名：Kubota Masayuki
所属研究機関名：新潟大学
部局名：医歯学系
職名：教授
研究者番号（8桁）：50205150

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。