

平成21年3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591872

研究課題名（和文） 低酸素応答因子制御による腎細胞癌予後改善の検討

研究課題名（英文） Improvement of renal cell carcinoma treatment using hypoxia inducible factor control

研究代表者

近藤幸尋 (KONDO YUKIHIRO)

日本医科大学・医学部・教授

研究者番号：80215467

研究成果の概要：

本研究は、まず臨床検体の低酸素応答因子およびその下流の変化の解析目的に免疫組織染色を行った。免疫組織染色は腎癌の手術標本を用いたため、腎の正常組織と癌組織で比較検討することが可能となった。腎の正常組織においてはHIF-1, 2, 3ともに発現がみられたが、HIF1および3が同一部位に存在するのに対してHIF-2は異なった部位に存在していることが明らかとなった。また腎癌組織においてHIF-1, 2, 3ともに発現がみられたがVEGFの発現とは、相関を認めなかった。しかしHIF-1およびVEGFに関しては癌細胞の悪性度とやや相関する傾向が認められた。

次にヒト腎細胞癌細胞であるACHN, VMRC, caki-1, caki-2に対して、遺伝子工学的手法を用いてHIF-1を遺伝子導入したが、caki-1および2は遺伝子導入効率が悪く、最も良かったVMRCを用いて実験を進めた。Hif-1を遺伝子導入したVMRC細胞は、低酸素に対する応答性が向上し、下流のVEGFおよびGLUT-1の遺伝子増幅が認められた。またHif-1を遺伝子導入したVMRC細胞は、細胞浸潤能が高くヌードマウスに皮下移植すると対照群に比較して増殖速度が速いにかかわらず中心性壊死が少なく増殖することが確認された。

そこでsiRNAを用いてHIF-1をノックダウンすると低酸素下での増殖能が低下し、ヌードマウスの背部皮下移植においても増殖の抑制効果を認めた。以上よりHIF-1を制御することにより腎癌の増殖コントロールが可能であることが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：腎細胞癌・低酸素応答因子・増殖抑制

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

転移を伴う腎細胞癌の治療は免疫療法が中心であり、一部分子標的治療が試みられているものの進行性腎細胞癌に対するそれらの成績は満足できる治療効果は得られていない。転移を伴う腎細胞癌の治療は免疫療法が中心であり、近年の分子標的治療は腫瘍血管の制御により癌の進展及び予後を改善する試みがなされている。

2. 研究の目的

我々は、以前より HIF の活性と腫瘍の増殖に関してヒト腎癌および膀胱癌を用いて検討し、HIF の活性化により VEGF も増幅され腫瘍増殖が亢進することを報告している。そこで本研究では臨床上での腎細胞癌における血管新生と HIF の活性との関連を明らかにし、更にこの HIF を介する転写を調節することにより癌治療の効率を上げることが目的としている。つまり HIF の活性を制御することにより VEGF など個々の分子標的を制御するだけでなくその上流の因子を制御することにより治療の効率化をはかるものである。

3. 研究の方法

本研究では腎細胞癌株にはじまり実際の手術標本より HIF-1 およびその下流の分子である VEGF や GLUT1 を測定し、腎細胞癌の臨床的経過を合わせて検討する。その上で腎細胞癌株の効率的な HIF-1 のノックダウン法を検討する。その際に以前報告済みの HIF-1 を遺伝子増幅した細胞も用いる。加えてこれらの細胞の腫瘍増殖・免疫治療剤に対する抗腫瘍効果の違いを検討する。また効率的なノックダウン法をヌードマウス背部皮下移植および肺転移モデルヌードマウスを用いて *in vivo* で検討する。効率的なノックダウン法と免疫療法の併用も検討する。

4. 研究成果

本研究は、まず臨床検体の低酸素応答因子およびその下流の変化の解析目的に免疫組織染色を行った。免疫組織染色は腎癌の手術標本を用いたため、腎の正常組織と癌組織で比較検討することが可能となった。腎の正常組織においては HIF-1, 2, 3 ともに発現がみられたが、HIF1 および 3 が同一部位に存在するのに対して HIF-2 は異なった部位に存在していることが明らかとなった。また腎癌組織において HIF-1, 2, 3 ともに発現がみられたが VEGF の発現とは、相関を認めなかった。しかし HIF-1 および VEGF に関しては癌細胞の悪性度とやや相関する傾向が認められた。

次にヒト腎細胞癌細胞である ACHN,

VMRC, caki-1, caki-2 に対して、遺伝子工学的手法を用いて HIF-1 を遺伝子導入したが、caki-1 および 2 は遺伝子導入効率が悪く、最も良かった VMRC を用いて実験を進めた。

HIF-1 を遺伝子導入した VMRC 細胞は、低酸素に対する応答性が向上し、下流の VEGF および GLUT-1 の遺伝子増幅が認められた。また HIF-1 を遺伝子導入した VMRC 細胞は、細胞浸潤能が高くヌードマウスに皮下移植すると対照群に比較して増殖速度が速いにかかわらず中心性壊死が少なく増殖することが確認された。

そこで siRNA を用いて HIF-1 をノックダウンすると低酸素下での増殖能が低下し、ヌードマウスの背部皮下移植においても増殖の抑制効果を認めた。以上より HIF-1 を制御することにより腎癌の増殖コントロールが可能であることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

Horii K., Suzuki Y., Kondo Y., Akimoto M., Nishimura T., Yamabe Y., Sakaue M., Sano T., Kitagawa T., Himeno S., Imura N., Hara S. Androgen-Dependent gene expression of prostate-specific antigen is enhanced synergistically by hypoxia in human prostate cancer cell *Mol Cancer Res* 5 383-391 2007 査読 有

Imamoto T., Kondo Y., Matsuzawa I., Hamasaki T., Suzuki Y., Saitoh Y., Suzuki H., Kimura G., Ichikawa T., Yoshida K., Nishimura T. Usefulness of intensive training for laparoscopic radical prostatectomy at an experienced institution *Jpn. J. Endourol.* ESWL 20 255-259 2007 査読 有

Misaki HATANAKA, Shigeki SHIMBA, Motoharu SAKAUE, Yukihiro KONDO, Hiroyuki KAGECHIKA, Koichi KOKAME, Toshiyuki MIYATA, and Shuntaro HARA Hypoxia-inducible Factor-3 α Functions as an Accelerator of 3T3-L1 Adipose Differentiation *Biol. Pharm. Bull.* 32 2009 査読 有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤幸尋 (KONDO YUKIHIRO)

日本医科大学・大学院外科治療学 (泌尿器

科)・教授
研究者番号 : 80215467

(2)研究分担者

(3)連携研究者