

機関番号：16401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791509

研究課題名（和文）腎細胞癌における降圧薬 ARB の腫瘍増殖作用の危険性の提唱

研究課題名（英文）Search for process of proliferation by the ARB of renal cell carcinoma

研究代表者

深田 聡（FUKATA SATOSHI）

高知大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80527599

研究成果の概要（和文）：

一般臨床の場において、主に降圧剤として利用されるアンギオテンシンⅡ受容体拮抗剤（以下ARB）は我々の検討において、ある特定の腎癌細胞株において、増殖作用を有することが示された。その原因、過程を解明していき、実際の臨床に還元できる治療法につながる結果を出すことを本研究の目的とした。検討結果において、ARB は癌細胞、正常細胞ともに低酸素下において細胞保護作用があり、増殖性の亢進している癌組織内ではこの作用が過剰発現し、癌増殖をもたらしていると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

ARB used as hypotensive drug in place of general clinical. It was shown that there was the renal cell carcinoma proliferation action in our examination. It was assumed to be a purpose of the present study to clarify the cause and the process. In the result of review, it was thought that proliferation had the cytoprotective property by both carcinoma cells and normal cells under low oxygen, and appeared excessively in the cancer organization that was accentuation this action, and had brought ARB the cancer proliferation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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、AT1 受容体拮抗剤（ARB）、分子標的治療薬

1. 研究開始当初の背景

腎細胞癌は腫瘍血管に富み、血行性に肺や肝臓および骨などに転移をする。画像検査の普及に伴い、偶発症例が増加しているが、初診時すでに転移有する進行症例も未だ 30% 存在し、また有効な腫瘍マーカーも存在せず、

転移性腎癌では5年生存率は10%程度と極端に予後不良であり、腎細胞癌においては転移が最も重要な予後因子であるといえ、転移の出現、転移巣の縮小などコントロールすることが、腎細胞癌全体の予後を向上させるものである。

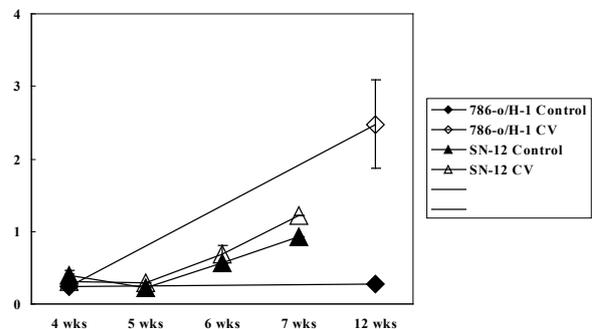
現在、それらの転移症例や切除不能症例などの進行性腎細胞癌に対しては、一般的にインターフェロン、インターロイキン2を使用した免疫療法が標準的な治療法であったが、その奏効率は10~20%と十分な治療効果が得られている方法とは言えない。近年、癌転移における臓器親和性の分子生物学的裏付けが、標的臓器の微小環境における接着、細胞外基質分解、走化・運動、増殖、血管新生などに関わるいわゆる”微小環境因子”の発現の観点から検討されており、我々の検討結果においても、転移性腎細胞癌において、転移巣では原発巣と比較して、微小血管密度(MVD)は高値で、Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)などの各血管新生関連因子も高発現であり、血管新生、および血管新生因子が腎細胞癌の転移に対する重要な規定因子であることが示唆された。(Levels of angiogenesis and expression of angiogenesis-related genes are prognostic for organ-specific metastasis of renal cell carcinoma, Cancer 103, 931-942, 2005 (IF 4.582))。また、実際の臨床の場合においても、最近、既存のインターフェロン療法のような免疫療法に代わる新しい治療法として、VEGFなどの微小環境内分子をターゲットとした分子標的治療薬が使用されるようになってきた。腎細胞癌においても、sorafenib、sunitinibなどのチロシナーゼ阻害薬(TKIs)が保険適応となり、実際に使用され、優れた治療効果が多数報告されている。

これらの結果をふまえて、我々は基礎ならびに臨床研究として、泌尿器癌における浸潤や転移の解析ならびにこれらの血管新生因子を標的とした各種分子標的治療薬によるその制御を行ってきた。実際、最近、抗血管新生因子阻害薬を用いた分子標的治療が盛んに行われるようになり、進行性腎細胞癌に対しての治療効果が期待されている。一方、臨床的には一般的に降圧剤として用いられているAngiotensin II receptor blocker (ARB)は癌の進行、転移における血管新生を制御する物質として最近注目されている。同じ泌尿器癌である前立腺癌の進行症例に対して、ARBの癌進行抑制効果が証明されている。(Angiotensin II receptor blocker shows antiproliferative activity in prostate cancer cells: A possibility of tyrosine kinase inhibitor of growth factor. Mol Cancer Ther. 2003;2:1139-1147) Angiotensin IIは腎に存在するAt 1 receptorに結合することによって、癌転写因子であるHypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α)を介してVEGFの発現度を制御することが証明されている。更に、腎細胞癌株は膀胱癌や前立腺癌株に比べ、このAt 1

receptorが高発現していることが証明されていることが我々の検討により証明されており、癌の血管新生を介する浸潤、転移において、ことに腎細胞癌においてARBは他の癌種と比較しより癌抑制的作用に強く働くと推測された。

しかし、我々の検討において、in vivoにおいて、von Hippel-Lindau (VHL) 癌抑制遺伝子 mutation を有する腎淡明細胞癌株 786-0/H-1 に対して、ARBであるCV11974を投与する治療実験を行ったところ、controlに比べ約10倍の腫瘍増大作用が示された。しかしVHL遺伝子にmutation持たない腎細胞癌細胞株SN-12では同様の実験系で腫瘍増大効果は認めなかった(下図参照)。

RCCs ± VHL mutation treated with CV11974 (ARB)



2. 研究の目的

以上の治療実験により、既知のARBによるAt 1 receptor - HIF-1 α - VEGF系の抑制作用はVHL遺伝子にmutationを有する腎細胞癌株には効果がなく、逆に腫瘍増強作用を有するという全く逆の効果が示されたことは、非常に興味深い結果であった。

そこで我々はこのメカニズムを解明するためにVHL遺伝子mutation株では癌細胞の増殖がARBによって抑制されず、逆に促進されてしまうような何か異なるpathwayが存在し、このpathwayがARBにより活性化されることにより、抑制作用よりも腫瘍増殖作用の方がより高い効果を発現するのではないかとこの仮説を立てた。この機序、過程のメカニズムを解明し、今後の腎細胞癌の治療、特に転移を有する進行性腎癌に対して既存の分子標的治療薬に加わる、より効果的な治療方法の確立を本研究の目的とする。

また、分子標的治療薬使用時に頻度の高い、有害事象として高血圧があげられるが、高血圧が認められた場合、通常はARBが実際の臨床ではごく一般的に使用されており、我々の結果、考察をふまえると、ARBの使用により、さらに腎細胞癌の増殖を助長している危険性もある可能性も否定できないと考えた。こ

の点に関しても、明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

①各種 VHL 遺伝子変異をもつ腎臓明細胞癌株の製作と機能解析および臓器別転移形成能への影響

腎臓明細胞癌株を採取し、VHL 遺伝子変異の有無をシーケンス法や Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法などの各種手法を行うことにより、解析する。

次に、ヌードマウスを用い、in vivo において、前述の各種 VHL 遺伝子変異細胞株の臓器別の転移形成能ならびに腫瘍増殖速度や生存期間を検討する。同時に、腎臓同所移植モデルと比較検討することで、各転移巣別に特異的な VHL 遺伝子変異パターン、血管新生因子の発限度の解析を行い、より効果的な治療方法を選択するためのデータを収集することにより、ARB、分子標的治療薬単独投与、あるいは併用療法を用いた治療実験を行うにあたり、より適切な VHL 遺伝子変異を有する腎細胞癌細胞株の選別を行う。

②腎細胞癌転移巣毎の ARB を加えた分子標的治療の効果の検討。転移巣別の臨床経過予測と分子標的治療の確立。

各転移臓器別（肺、肝、骨、皮下など）に選出した高転移細胞株を用いた血管新生因子、および転移関連因子をターゲットとした、分子標的治療薬による臓器特異性の転移抑制、転移巣縮小を目的とした治療実験を行う。またそれに加え ARB を単独、あるいは既存の分子標的治療薬と併用した投与実験を行うことにより、その治療効果、ARB の腫瘍増殖能に与える影響に関して、転移臓器別に解析検討を行う。

さらには実際の臨床にて外科的に切除しええ腎細胞癌の転移巣を用いた異所移植モデルに対する治療実験を行うことにより、基礎研究データとの適合性を確認する。

最終的に臨床の現場において、原発巣の病理組織学的所見、VHL 遺伝子変異パターン、血管新生因子、増殖因子などの分子生物学的因子の発限度の解析を行うことにより、将来的に出現する転移の部位や数、さらには転移後の発育様式などの臨床経過を予測することにより、個々の症例の予後や転移巣別の抗血管新生薬、分子標的治療薬を中心とする治療方法の選択基準の確立を目指す。

また、腎細胞癌症例に対しての ARB の投与の妥当性についても同時に今回の解析結果より検討を行う。

4. 研究成果

高転移性、高増殖性の VHL 遺伝子変異を有する腎細胞癌細胞株を選出し、ヌードマウスを用いた腎細胞癌同所移植実験を行った。in vivo での ARB 単独投与群、分子標的治療薬（チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI s)）単独投与群、および上記 2 剤 (ARB と TKI s) の併用群、コントロール群の計 4 群において、上記腎細胞癌株をヌードマウスの腎に対して同所移植を行った。連日、上記の通り、4 群ごとに ARB、TKI s を経口投与を行い、癌増殖、転移形成能を比較検討した。

結果、同所移植を行った、腎（原発巣）での癌増殖能はそれぞれにおいて、明らかな有意差は認められなかったが、ARB 投与群においては、腫瘍を含めた重量が大きく、癌増殖能が亢進している傾向が認められた。また、転移形成能、転移巣での腫瘍増殖能においては、肺転移、リンパ節転移が確認はされたが、群間比較において、明らかな有意な差は見いだせないという結果であり、in vivo における検討においては我々の考察とは異なる結果であった。

今回の実験、解析、検討では、in vitro で認められた、ARB の VHL 遺伝子変異腎癌細胞株の過剰な腫瘍増殖作用やその機序を見出すことはできなかったが、ARB は正常腎尿細管保護作用があり、実際の臨床においても、腎機能の増悪予防効果が示されている。

この ARB の作用は、たとえば低酸素下状態において、誘導され、アポトーシスを抑制する作用が示されている。

以上の結果より、ARB の正常細胞保護作用と同様なことが癌組織内においても正常細胞以上に起こり、癌細胞に ARB を加えることにより、癌細胞保護作用が過剰に増強し、アポトーシスの抑制、ひいては癌増殖につながるものと仮定、推察した。

現在、引き続き、この作用、現象の詳細な pathway は解析途中であるが、これらが解明され、仮に ARB の腎細胞癌増殖作用が確定的なものとなれば、臨床の場において、腎細胞癌に対して分子標的治療薬を投与した際に、よく認められる頻度の高い有害事象である高血圧に対して、ARB を使用することは、癌増殖を促進する危険性が上昇することになりえるという非常に重要な情報を提供することが可能になりえるから、臨床的にも非常に意義がある研究と考えている。

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)

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

深田 聡 (FUKATA SATOSHI)

高知大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80527599

(2) 研究協力者

辛島 尚 (KARASHIMA TAKASHI)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：60304672