

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 4 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20090

研究課題名(和文) 転移性腎細胞癌に対するHedgehog経路に対する新規標的治療

研究課題名(英文) Targeting therapy of hedgehog signaling in metastatic renal cell carcinoma

研究代表者

古川 順也 (FURUKAWA, JUNYA)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20448179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：進行腎細胞癌に対するHedgehog シグナルに対する新規治療の確率及び現在の進行及び有転移腎細胞癌治療の1stライン治療であるSunitinibに対する薬剤耐性の克服に関する新たな知見を得ることを目標として研究を行い、樹立したSunitinib耐性ヒト腎細胞癌ではSunitinib治療後もHedgehogシグナルの重要な役割を担うGli2の発現が保たれていることを見出し、39例のSunitinib治療を行なった有転移腎癌の摘出標本の免疫染色においてもGli2発現レベルがSunitinib治療の無増悪生存期間と相関しており、バイオマーカーとなり得ることを英文誌に報告した。

研究成果の概要(英文)：This study reports that retrospectively reviewed clinicopathological data from a total of 39 consecutive Japanese patients undergoing radical nephrectomy, who were diagnosed with metastatic clear cell renal cell carcinoma and subsequently treated with sunitinib as a first-line therapy, and evaluated whether expression levels of Hedgehog signaling-related proteins and major molecular targets of sunitinib in primary RCC specimens could be used as a reliable prognostic factor for this cohort of patients. We concluded that GLI2 appeared to be associated with the prognosis of Japanese patients who were treated with sunitinib as a first-line therapy for m-ccRCC. Furthermore, GLI2 is involved in the acquisition of resistance to sunitinib in RCC.

研究分野：泌尿器癌治療

キーワード：腎細胞癌 標的治療 Hedgehog経路

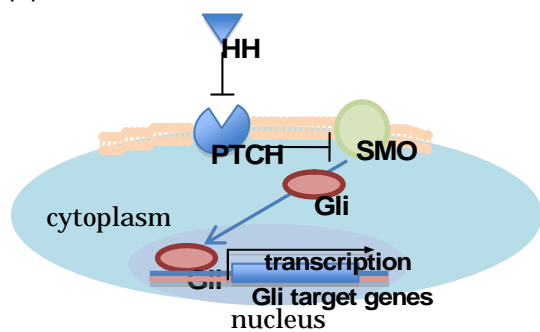
1. 研究開始当初の背景

Hedgehog(Hh)シグナルは胎生期の臓器形成において重要な因子として同定された。その後、Hh シグナル上に属する伝達因子の変異で、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫などが発生することが明らかとなり、近年では消化器癌や乳癌、肺癌、前立腺癌さらには腎細胞癌で Hh シグナルが活性化し、癌の発生・進展に関与していることが明らかにされた。

この発見は、これらの癌細胞が細胞外シグナル伝達により制御できる可能性を示しており、Hh シグナル制御が新たな分子標的治療の候補となってきている。Hhシグナルは3種類のHhリガンドがシグナルに対し抑制的に働くレセプターである12回膜貫通型蛋白 Patched1(Ptch1)が、7回膜貫通型蛋白 Smoothened(Smo)の細胞膜局在を抑制し、下流のシグナル分子である転写因子 Gli ファミリー(Gli1, Gli2, Gli3)の抑制に働いているが、Hhリガンドの結合により Ptch1 の Smo に対する抑制が解除され Smo から Gli に至る経路が活性化され Gli の標的遺伝子が転写活性される。Sh シグナルの中心的な役割を占める Gli により細胞周期、細胞増殖、細胞浸潤および抗アポトーシスに関連する標的分子の活性化により癌細胞の増殖・進展が促進される。これまで前述した他の癌腫での報告はあるが腎細胞癌の増殖進展や薬剤耐性と Gli に関連する報告は皆無であり、これらの背景より Gli が腎細胞癌の標的分子である可能性につき研究を開始するに至った。

図1に Gli 活性のシグナル伝達経路のスキームを示す。

図1



2. 研究の目的

近年、転移性腎細胞癌の治療方針は分子標的治療薬の出現により劇的に変化しつつある。いくつかの新規薬剤では転移性腎細胞癌患者の予後を延長することが示されたが、その予後延長期間は満足できるものではなく、細胞増殖や血管新生に関与する標的分子の阻害は他のシグナル伝達経路の活性化により薬剤耐性化をもたらすため薬剤耐性の解明および効果的な併用療法の開発を行い、より効果的な治療戦略を構築することが急務であると考えられる。

前述した Gli の発現が Sunitinib 耐性時にどのように変化しているか、また Gli 発現レベルが分子標的治療を行なった患者の予後を予測する新規バイオマーカーとなり得るかを明らかにすることを本研究の目的とした。

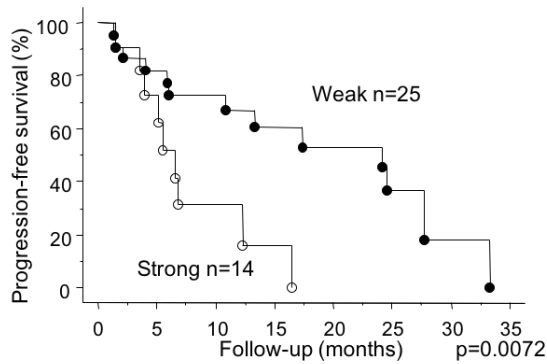
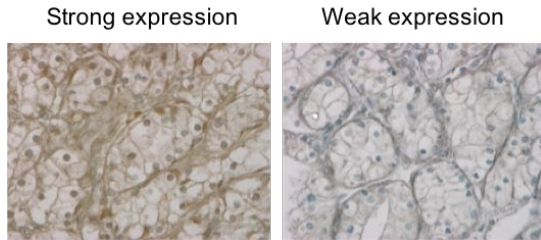
3. 研究の方法

スニチニブによる治療を行った転移性腎細胞癌患者より得た組織を免疫組織染色の手法を用い、Hedgehog 関連蛋白及び Sunitinib の標的分子である VEGFR や PDGFR 関連蛋白の発現レベルを測定しその発現レベルと Sunitinib の治療効果の解析を行う。また樹立したスニチニブ耐性ヒト腎細胞癌細胞株を用い in vitro においても種々の癌の進展に関与する Hedgehog シグナルが活性化されているかどうか Western blotting の手法を用い評価を行う。

4. 研究成果

Sunitinib 治療を行なった有転移腎細胞癌のうち淡明細胞型腎細胞癌の原発巣の摘出標本における様々 Sunitinib の標的に関連する分子や Hedgehog シグナルに関連する分子の蛋白発現レベルを免疫組織学的手法により評価をおこない、様々な分子のうち Cox 比例ハザードモデルを用いた解析において Gli2 の発現レベルが独立した Sunitinib の治療抵抗性を予測するバイオマーカーとなり得ることが明らかとなった。またヒト腎癌細胞株を用いた研究では Sunitinib 治療抵抗性の腎癌細胞株では親株と比較し Sunitinib 治療後においても Gli2 発現レベルが低下することなく高発現を維持されており、以上より Gli2 が Sunitinib 治療抵抗性を克服する新規標的治療の可能性を示しており、本研究結果を下記英文誌に報告した。

図2
スニチニブによる治療を行った転移性腎細胞癌患者より得た組織における Gli2 蛋白発現レベルと Sunitinib 治療に対する無増悪期間との関係



Gli2 発現レベルが高いものは Sunitinib 治療の無増悪期間が短いことが示された。

図3 .
Sunitinib 治療抵抗性の腎癌細胞株 (ACHN/R) では親株 (ACHN/P) と比較し Sunitinib 治療後においても Gli2 発現レベルが低下することなく高発現が維持されている。

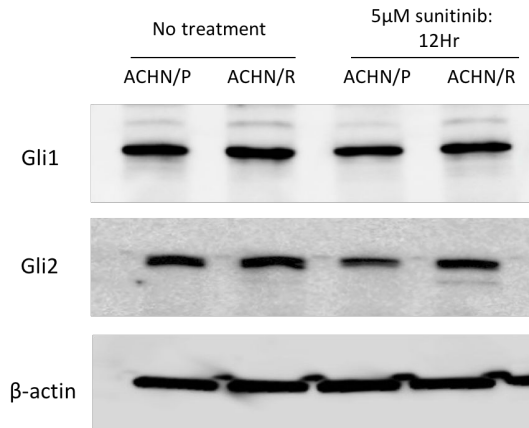


図4

Cox 比例ハザードモデルを用いた Sunitinib 治療の治療効果を予測する各種因子の解析

Variables	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Hazard Ratio (95%CI)	p Value	Hazard Ratio (95%CI)	p Value
Age(years) (younger than 70 vs 70 or older)	1.50 (0.65-3.44)	0.33	-	-
Sex (male vs female)	1.46 (0.48-4.35)	0.49	-	-
Karnofsky PS (80 or greater vs less than 80)	1.17 (0.39-7.40)	0.77	-	-
Presence of metastasis at diagnosis (negative vs positive)	1.48 (0.46-3.99)	0.42	-	-
Pathological T stage (pT1 or pT2 vs pT3 or pT4)	2.55 (0.74-8.77)	0.13	-	-
Grade (2 vs 3)	1.72 (0.67-4.40)	0.25	-	-
Microvascular invasion (negative versus positive)	1.71 (0.39-7.40)	0.47	-	-
Multiplicity of metastasis (solitary vs multiple)	1.14 (0.47-2.73)	0.76	-	-
MSKCC risk group (favorable or intermediate vs poor)	2.57 (1.03-7.19)	0.042	2.15 (0.23-19.8)	0.49
Heng's risk group (favorable or intermediate vs poor)	1.27 (0.53-1.86)	0.58	-	-
Pretreatment serum C-reactive protein (normal vs high)	2.69 (1.07-6.73)	0.034	2.24 (0.68-7.43)	0.18
Gli1 (weak expression versus strong expression)	1.04 (0.43-2.53)	0.91	-	-
Gli2 (weak expression versus strong expression)	3.57 (1.33-9.52)	0.011	3.86 (1.11-13.3)	0.038
VEGFR1 (strong expression versus weak expression)	2.69 (1.04-5.58)	0.029	5.17 (0.38-69.8)	0.21
VEGFR2 (strong expression versus weak expression)	2.66 (1.04-6.79)	0.040	3.55 (0.23-52.6)	0.35
PDGFR alpha (weak expression versus strong expression)	1.27 (0.41-3.92)	0.67	-	-
PDGFR beta (weak expression versus strong expression)	1.45 (0.58-3.64)	0.41	-	-
CyclinD1 (weak expression versus strong expression)	2.04 (0.85-4.90)	0.10	-	-
CyclinE (weak expression versus strong expression)	1.12 (0.47-2.83)	0.79	-	-
TGF-beta (weak expression versus strong expression)	1.56 (0.64-3.78)	0.32	-	-

原発巣における Gli2 の高い発現が独立した治療予後不良因子となっていることが示された。

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1件)

GLI2 expression levels in radical nephrectomy specimens as a predictor of disease progression in patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma following treatment with sunitinib.

Furukawa J, Miyake H, Fujisawa M.

Mol Clin Oncol. 2016 Sep;5(3):186-192.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計0件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古川 順也 (Furukawa Junya)

神戸大学大学院医学研究科

腎泌尿器科学分野 講師

研究者番号：20448179

(2) 研究分担者

該当なし