

令和元年8月29日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11021

研究課題名(和文) FDG PET/CTを活用した分子標的治療抵抗性腎癌に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of the novel therapy for renal cell carcinoma resistance to molecular targeting therapy using the assessment by FDG PET/CT

研究代表者

中井川 昇 (Nakaigawa, Noboru)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：00237207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：FDG PET/CTを用いて腎細胞癌のVEGF受容体チロシンキナーゼ阻害剤(VEGFr-TKI)に対する効果判定を行った患者の血液を用いて、リアルタイムで効果判定が可能な血液バイオマーカー候補を同定した。その有用性を検討したところ早期の採血によってVEGFr-TKI治療の無増悪生存期間の予測が可能であった。さらに、作用機序の異なるmTOR蛋白阻害剤の効果も予測できる可能性を認めた。また、VEGFr-TKI治療中の耐性獲得にはmTOR蛋白の活性が必要であることを明らかにした。さらに、免疫チェックポイント阻害剤の早期効果判定にもFDG PET/CTによる評価が有用であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病態を評価する血液バイオマーカーが確立されていない腎細胞癌において腫瘍径の著明な変化を来さずに抗腫瘍効果を発揮することのある血管新生阻害剤、mTOR阻害剤、免疫チェックポイント阻害剤の効果判定は従来のCT画像評価だけでは困難であり、治療の切り替えのタイミングが臨床で大きな課題となっている。我々が同定した血液バイオマーカーとFDG PET/CTによって治療中の腎細胞癌をモニタリングすることにより効率の高い治療体系を確立できれば、進行性腎細胞癌患者さんの生命予後の延長が期待できるだけでなく、無効な治療を継続することで生じる副作用による生活の質の低下や医療費の高騰を防ぐことが可能と思われた。

研究成果の概要(英文)：We identified the candidates of the blood biomarker which assess the anti-tumor effect of tyrosine kinase inhibitor for vascular endothelial growth factor receptor (VEGFr-TKI) to renal cell carcinoma (RCC) in real time, using the blood samples gained from the patients who were monitored by FDG PET/CT. This biomarker could predict not only the progression free survival of VEGFr-TKI, but also the response to mTOR inhibitor of RCC. Based on the sequential FDG PET/CT monitoring of RCC treated by VEGFr-TKI, we clarified the resistance acquisition mechanism of RCC to VEGFr-TKI which was regulated by mTOR protein signal. Additionally, we revealed that the early assessment using FDG PET/CT was useful for predicting the anti-tumor effect of immune checkpoint inhibitor to RCC.

研究分野：泌尿器悪性腫瘍

キーワード：腎細胞癌 分子標的治療薬 抵抗性獲得機序 ブドウ糖集積 FDG PET/CT

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の学術的背景

我々は1993年に腎細胞癌の8割を占める淡明細胞型腎癌の原因遺伝子VHL遺伝子を同定した(Latif F et al. Science. 260:1317-20. 1993)。その後VHL遺伝子の不活性化によってhypoxia inducible factor (HIF)と呼ばれる転写因子の細胞内の蓄積が起こり、その結果として血管内皮細胞成長因子(VEGF)の過剰産生が生じ、腫瘍内の血管新生が誘導され腎癌が進行するというメカニズムが明らかになった。この知見を踏まえVEGFの受容体を標的とした分子標的薬が開発され進行性腎癌細胞患者の生命予後は著明に延長した。しかし、分子標的薬には従来の抗癌剤のような腫瘍縮小効果はなくCT画像診断ではその効果判定が困難であることや、分子標的薬に抵抗性を示す腎細胞癌が存在すること、一時的に進行を抑えられた腎細胞癌もやがて耐性を獲得し再び進行することなど、様々な問題も明らかになってきた。

そこで、我々は分子標的薬に対する耐性機序を明らかにするために腎癌細胞を血管新生を阻害した状態に近い低酸素状態で培養し、生き残った腎癌細胞の細胞内蛋白発現の変化をプロテオミクス解析という手法で網羅的に測定を行った。その結果、エネルギー源である糖の取り込みを担う膜蛋白や糖代謝に関わる酵素の発現が上昇していることが明らかになってきた。この結果から糖の集積の高い腎細胞癌は低酸素状態に対し耐性を獲得していると予想され、糖の集積を評価することで分子標的薬に対する耐性を予測・判定できると考えた。この仮説を立証、臨床応用するために組織内の糖集積の状態を測定できる画像診断法であるFDG PET/CTを用いて進行性腎細胞癌の患者さんをモニタリングしたところ、糖の集積の高い腎細胞癌は分子標的薬に対して抵抗性を示し、糖集積が比較的低い腎細胞癌では分子標的薬によって糖の集積が低下するものと、低下しないものに分かれ、前者は長期間進行が抑えられ、後者では早期に癌が進行を再開すること、また糖の集積が低下した腎癌でも一定期間の後に糖の集積が上昇を始め、その後3か月前後でCT画像でも確認できる腫瘍の増大、進行が起きてくることを明らかにした。

すなわち、FDG PET/CTは進行性腎細胞癌の分子標的薬に対する耐性の予測とリアルタイムでの分子標的薬の抗腫瘍効果判定が可能な画像バイオマーカーであると言えるが、放射線被曝の問題や経済的な面から頻回に行える検査ではないこと、施行できる施設も限られていることから、より侵襲少なく安価に簡便にモニタリングができる方法が必要と思われた。

そこで、FDG PET/CTにより分子標的治療の効果モニタリングを行う患者さんの協力を得て血液サンプルを採取、FDG PET/CTの評価による腎癌病変の糖の集積の変化と相関を示す血中蛋白を探索し、実際の腎癌手術標本等を用いて耐性に関わる蛋白の発現を調べ、実際の生体内でどのような機序で腎細胞癌が血管新生阻害剤に対し抵抗性を獲得するのか明らかにし、そのメカニズムを標的とした治療法の開発に繋がる知見を得たいと考えた。

また、腎癌治療におけるFDG PET/CTモニタリングの更なる応用の可能性を探るために、開発の進む新たな腎癌治療薬の効果判定法としてのFDG PET/CT評価の有用性についても検討を行いたいと考えた。

2. 研究の目的

私達はグルコースの組織への集積を画像として描出するFDG PET/CTによって腎細胞癌の分子標的治療薬に対する反応をリアルタイムに評価できることを明らかにしてきた。そこでFDG PET/CT評価と同時に採取した血液検体をプロテオミクス解析し、FDG PET/CT評価と相関する変化を示す血中蛋白を同定し、これらの蛋白から薬物療法の効果を判定する新規腎細胞癌バイオマーカーを同定するとともに、治療に抵抗を示す際に発現が上昇する蛋白に注目し、その機能を解析することで腎癌の分子標的治療薬に対する抵抗性獲得メカニズムを明らかにし、分子標的治療薬に抵抗性を示す腎細胞癌に対する新たな治療法を開発したいと考えている。

さらに腎癌治療におけるFDG PET/CTモニタリングの更なる可能性を探るために、開発の進む新たな腎癌治療薬の効果判定法としてのFDG PET/CT評価の有用性についても検討を行う。

3. 研究の方法

分子標的治療薬に対する反応をFDG PET/CTによってモニタリングをした腎癌患者さんの血液のプロテオミクス解析の結果から分子標的治療薬に対する反応を反映すると思われる約数10種類の血中蛋白を対象として本研究は進めていく。既存の報告において発癌、癌の進行に関与することが示唆され、かつ腎癌組織において発現が確認できた蛋白を対象に測定法を確立し、FDG PET/CTに代るバイオマーカーとなりうるか検証する。また、FDG PET/CTを用いて分子標的薬治療中の患者さんを長期間観察し、分子標的治療薬に対する耐性獲得をモニタリングできるか検討し、耐性獲得に関連すると考えられる蛋白を同定、耐性獲得のメカニズムを明らかにする。さらに新規腎癌治療薬においてもFDG PET/CTによって抗腫瘍効果を評価できるのか検証する。なお、これらの解析を同時に進めることで互いの作業の効率化を図る。

4. 研究成果

1)進行性腎細胞癌に対する標準的治療薬である血管内皮細胞成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤(VEGFR-TKI)治療中の患者さんの協力を得て採取した血液検体を用いてプロテオミクス

解析を子なったところ、治療が奏効した症例において治療開始2 - 4週間で血中濃度が低下し、治療に対して抵抗を示した症例において血中濃度が上昇する血中蛋白を数種類同定した。次に手術によって得た腎細胞癌組織を用いてそれらバイオマーカー候補となりうる蛋白のmRNAレベル、蛋白レベルにおける発現を解析したところ、比較的腎癌組織に特異的に高発現していると考えられる2種を選択した。これらの蛋白の血中濃度を測定するためにELISA法による同蛋白の血中濃度の測定法を確立した。

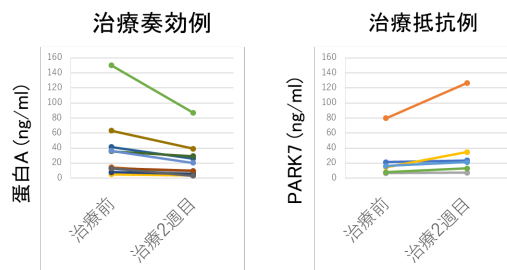


図1 血中バイオマーカー候補 蛋白Aの治療中の血中濃度の変化

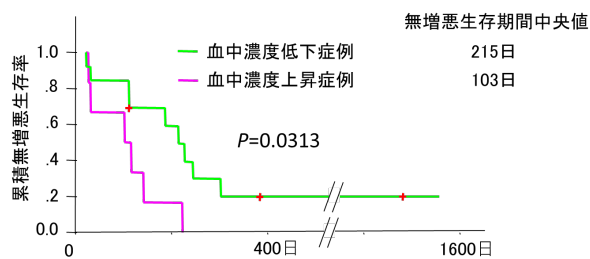


図2 血中濃度上昇群とおよび低下

次に、VEGFR - TKIとは抗腫瘍作用メ
ている進行性腎細胞癌患者さんの1
ころ、治療開始後の変化が治療効!

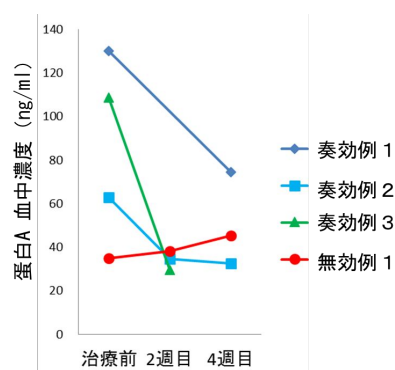
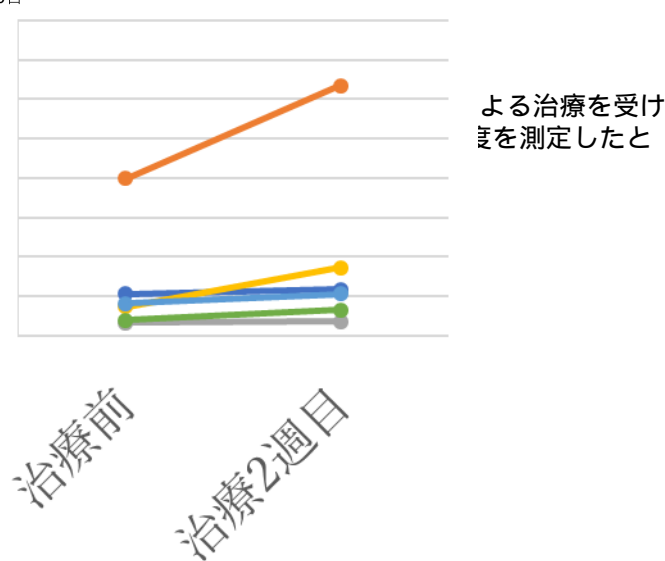


図3 mTOR阻害剤投与による血中濃度の変化と治療効果



現在、このバイオマーカー候補の臨床的有効性について症例数を増やし前向きに検証中である。

2)腎細胞癌のVEGFr-TKIに対する治療抵抗性獲得をFDG PEET/CTによってモニタリングできるか
検討を行ったところ、VEGFr-TKIに対して一時的に奏効を示した症例のうち、FDGの集積が治療中
に上昇してくる症例ではその後治療に抵抗を示し進行すること明らかになった。

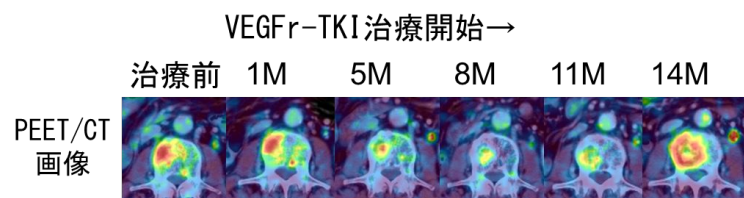


図4 FDG PET/CTによる骨転移病変の観察

さらに、腎癌細胞を用いた*in vitro*の実験系でVEGFr-TKI抵抗性獲得に必要なブドウ糖の集積は
mTOR蛋白の活性によって制御されていることを明らかにするとともに、VEGFr-TKI治療後にmTOR
蛋白阻害剤を投与された患者さんのFDGの集積を観察することによって、臨床的にこのメカニ
ムを初めて証明した。

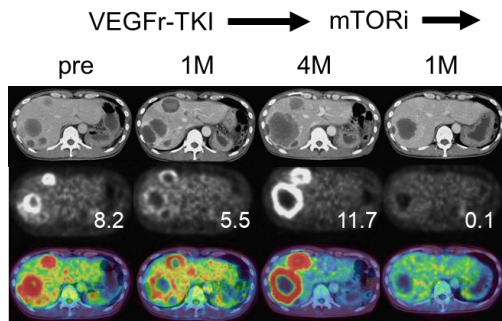


図5 VEGFr-TKI治療に対して抵抗性を示した症例におけるTOR阻害剤によるFDG集積の低下

3) 2016年8月に進行性腎癌に対する治療薬として承認された免疫チェックポイント阻害剤ニボルマブを投与した患者さんをFDG PET/CTによってモニタリングしたところ、1か月目にFDGの集積が上昇する病変は4か月目に著明に縮小することを明らかにした。

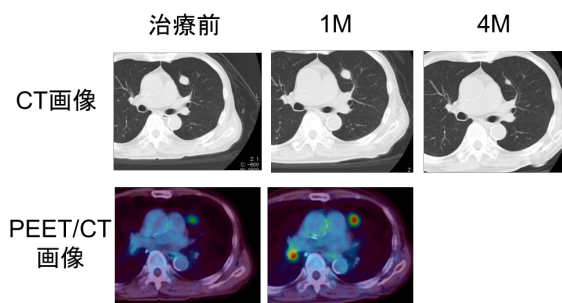


図6 腎癌肺転移病変のニボルマブ投与による1か月目のFDG集積の変化と4か月目の腫瘍サイズの変化

今後免疫チェックポイント阻害剤治療の効果判定法としてのFDG PET/CTの有用性について検証を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Nakaigawa N, Kondo K, Ueno D, Namura K, Makiyama K, Kobayashi K, Shioi K, Ikeda I, Kishida T, Kaneta T, Minamimoto R, Tateishi U, Inoue T, Yao M. The acceleration of glucose accumulation in renal cell carcinoma assessed by FDG PET/CT demonstrated acquisition of resistance to tyrosine kinase inhibitor therapy. *BMC Cancer*. 17:39. (2017) 査読あり

Ito H, Kondo K, Kawahara T, Kaneta T, Tateishi U, Ueno D, Namura K, Kobayashi K, Miyoshi Y, Yumura Y, Makiyama K, Hayashi N, Hasumi H, Osaka K, Yokomizo Y, Teranishi JI, Hattori Y, Inoue T, Uemura H, Yao M, Nakaigawa N. One-month assessment of renal cell carcinoma treated by everolimus using FDG PET/CT predicts progression-free and overall survival. *Cancer Chemother Pharmacol*. 79:855-861. (2017) 査読あり

Kasahara R, Nakaigawa N, Kobayashi K. Complete Response to Sorafenib Rechallenge in a Patient with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Case Rep Oncol Med*. 2017:2648471. (2017) 査読あり

Nakaigawa N, Kondo K, Kaneta T, Tateishi U, Minamimoto R, Namura K, Ueno D, Kobayashi K, Kishida T, Ikeda I, Hasumi H, Makiyama K, Hayashi N, Osaka K, Muraoka K, Izumi K, Kawahara T, Teranishi JI, Miyoshi Y, Yumura Y, Uemura H, Inoue T, Yao M. FDG PET/CT after first molecular targeted therapy predicts survival of patients with renal cell carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*. 81:739-744. (2018) 査読あり

Noguchi G, Nakaigawa N, Taguri M, Tsutsumi S, Saito Y, Fukui S, Yasui M, Tokita T, Mitome T, Tatenuma T, Kuroda S, Abe K, Ueno D, Namura K, Uemoto S, Takizawa A, Ohta J, Ueki T, Watanabe T, Kobayashi K, Kondo K, Kishida T, Kanno H, Kitami K, Yamanaka T, Yao M. Time-dependent change in relapse sites of renal cell carcinoma after curative surgery. *Clin Exp Metastasis*. 35:69-75. (2018) 査読あり

Tabei T, Nakaigawa N, Kaneta T, Ikeda I, Kondo K, Makiyama K, Hasumi H, Hayashi N, Kawahara T, Izumi K, Osaka K, Muraoka K, Teranishi JI, Miyoshi Y, Yumura Y, Uemura H, Kobayashi K, Inoue T, Yao M. Early assessment with ^{18}F -2-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography/computed tomography to predict short-term outcome in

clear cell renal carcinoma treated with nivolumab. BMC Cancer. 19:298. (2019) 査読あり

〔学会発表〕(計 6 件)

中井川昇 FDG PET/CT を用いた進行性腎細胞癌の分子標的治療に対する反応予測についての検討 第 54 回日本癌治療学会学術総会 2016 年 10 月 20-22 日 横浜

中井川昇 FDG PET/CT を用いた 1st line 分子標的治療終了後の予後予測の有用性の検討 第 105 回日本泌尿器科学会総会 2017 年 4 月 21-24 日 鹿児島

中井川昇 FDG PET/CT を用いた 1st line 分子標的治療終了後の予後予測の有用性の検討 第 55 回日本癌治療学会学術総会 2017 年 10 月 20-22 日 名古屋

Nakaigawa N. Japan multicenter prospective study: FDG PET/CT in the assessment of advanced renal cell carcinoma treated with sorafenib. 2018 Genitourinary Cancers Symposium (ASCO) 8-10 February 2018 San Francisco, USA

Nakaigawa N. FDG PET/CT after first molecular targeted therapy predicts survival of patients with renal cell carcinoma 16th Urological Association of Asia Congress 17-21 April 2018 Kyoto, Japan

Nakaigawa N. Early assessment by FDG PET/CT to predict short-term outcome in clear cell renal carcinoma treated with nivolumab. 2018 ASCO Annual meeting 1-5 Jun 2018 Chicago USA

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

研究分担者

研究分担者氏名：矢尾 正祐

ローマ字氏名：Masahiro Yao

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：医学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：00260787

研究分担者氏名：近藤 慶一

ローマ字氏名：Keiichi Kondo

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：附属病院

職名：准教授

研究者番号 (8 桁)：80363836

(3)研究協力者

なし