

令和 6 年 4 月 26 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K15976

研究課題名(和文) 犬尿路上皮がんの新規治療戦略～BRAF阻害剤を用いた抗炎症療法によるがんの制圧～

研究課題名(英文) Novel therapeutic strategy for canine urothelial carcinoma: cancer elimination by anti-inflammation with BRAF inhibitor

研究代表者

木之下 怜平 (Kinoshita, Ryohei)

北海道大学・獣医学研究院・助教

研究者番号：30761150

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、イヌ尿路上皮がん(UC)におけるBRAF阻害剤を用いた新たながん治療法の確立と、尿中のUC細胞の遺伝子発現解析を目的とした。

北海道大学附属動物病院に来院したBRAF遺伝子変異陽性UCの犬7症例に対してダブラフェニブ(5mg/kg/日)の投与を行った。臨床的有効性はPR1例、SD5例、PD1例であり、多くの症例で臨床上的改善が得られた。4例で副作用と思われる皮膚腫瘍を認めたが、投薬減量または中止が必要な症例はいなかった。これらの結果より、ダブラフェニブがUCに対して有用である可能性が示唆された。また、臨床試験前および終了時に採取した尿中の腫瘍細胞からRNAの抽出を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イヌ尿路上皮がん(UC)は、内科療法への反応率の低さや耐性の発現などにより予後不良の疾患とされており、新たな治療法の確立が求められている。BRAF阻害薬であるダブラフェニブを担癌犬に投与した報告はなくその有用性は不明であったが、本研究によりダブラフェニブのイヌにおける安全性、イヌUCに対する有用性が示され、イヌでもヒトと同様の副作用がみられることが明らかとなった。さらなる調査によりイヌUCの新たな治療法となることが期待される。また、イヌUCは疫学や臨床的特徴が類似していることからヒトUCのモデルとして用いられる。そのため、本研究結果は一部のヒトUCに対しても有益な結果となりうる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to establish a new cancer therapy using BRAF inhibitors in canine urothelial carcinoma (UC) and to analyze gene expression of UC cells in urine. Seven dogs with BRAF mutation-positive UC who presented to Hokkaido University Veterinary Hospital were treated with dabrafenib (5 mg/kg/day). Clinical efficacy was observed in 1 case of PR, 5 cases of SD, and 1 case of PD, and clinical improvement was achieved in many cases. Four cases had skin masses that appeared to be side effects, but none required dose reduction or discontinuation. These results suggest that dabrafenib may be useful for UC. RNA were also extracted from tumor cells in urine collected before and at the end of the clinical trial.

研究分野：獣医腫瘍学

キーワード：イヌ尿路上皮癌 BRAF阻害薬 ダブラフェニブ

1. 研究開始当初の背景

- (1) ペットの高齢化にともない、人と同様のがんがイヌの死因の第一位になっている。イヌ尿路上皮がん (UC) は、特に悪性度が高く発生も多いがんの一つとして知られている。既存の化学療法への反応性の低さや耐性の発現などの理由から予後不良とされおり、その他の治療の選択肢も限られていることから、イヌ UC に対する新たな治療法の確立が求められている。
- (2) 現在、イヌ UC の内科療法の中心は NSAIDs であり、NSAIDs 単剤でも肉眼病変が消失することから、UC の病態においてはがん細胞自体の増殖能のみならず、がん周囲の炎症環境が重要であると考えられる。これに関して申請者らの研究グループは、UC 細胞株は *in vivo* において NSAIDs の主なターゲットであり炎症促進作用を持つプロスタグランジン E2 (PGE2) を大量に産生すること、そして PGE2 はがん細胞の増殖や生存よりも、がん細胞周囲の環境にとって重要であることを初めて実験的に明らかにした。
- (3) 2015 年にアメリカの研究グループから UC における BRAF 遺伝子変異が報告された。申請者の所属する研究グループでは、UC 症例の約 70% がこの変異を保有することに着目し、尿沈澱サンプルを Digital PCR 解析することによる非侵襲的な診断方法を開発した。現在、この方法は臨床現場において広く用いられている。さらに申請者らは、BRAF 遺伝子変異が PGE2 の発現を制御し、炎症環境の構築に大きくかかわっていることを見出した。
- (4) BRAF 阻害薬は、変異 BRAF による細胞増殖を抑制する分子標的薬として開発された。そのひとつであるダブラフェニブは、ヒトの BRAF 変異型悪性黒色腫や肺癌において、従来の抗がん剤治療と比較して奏効率、生存期間を飛躍的に改善させた。

2. 研究の目的

本研究では、我々が明らかにしたイヌ UC の炎症環境における BRAF 遺伝子変異の重要性に着目し、これをターゲットにする BRAF 阻害薬を用いたイヌ UC の新たな治療法を確立することを目的とする。さらに、尿中のがん細胞の遺伝子発現を治療の前後に解析することで、治療効果を評価するだけでなく、生体における BRAF の阻害が炎症にかかわる分子などにもたらす影響や薬剤耐性がみられる場合には、その機序を探索したい。

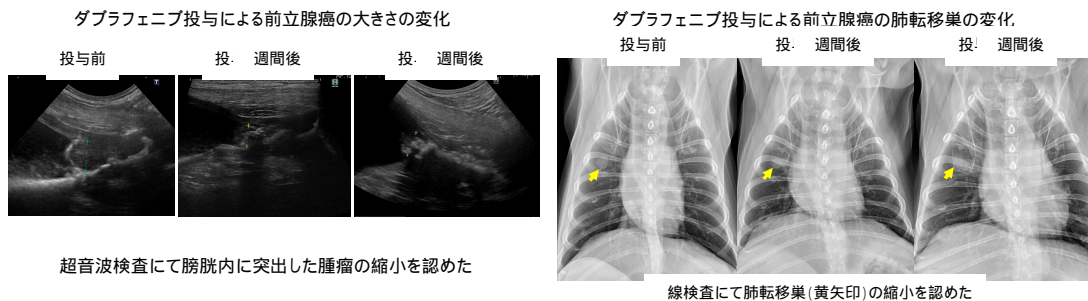
3. 研究の方法

- (1) BRAF 阻害剤であるダブラフェニブは BRAF 変異を保有する人悪性黒色腫に対して使用が認可されているが、イヌに対する投与プロトコルは検討されていないため、臨床例に用いるプロトコルを策定する。
- (2) BRAF 阻害剤を用いた新規治療法の有用性を検討するため、北海道大学附属動物病院に来院し、BRAF 遺伝子変異を保有するイヌ UC と診断された症例を対象に治験を実施する。策定した投与量を用いて 8 週間治療を行った後、RECIST に基づき画像診断による腫瘍径の変化および新規転移病変の有無による効果判定を行う。経時的な副作用の評細は VCOG-CTCAE に基づき、Grade の副作用が認められた場合は投薬を中止する。

- (3) ダブラフェニブ投与試験開始前および治療後にイヌ UC 症例の尿から UC 細胞を採取し、RNA-Seq により遺伝子発現を解析する。

4. 研究成果

- (1) BRAF 阻害剤であるダブラフェニブのイヌに対する投与プロトコルについては、ヒトの BRAF 阻害薬の販売元であるノバルティスファーマに提供依頼した。同社のイヌを用いた販売前安全性試験の結果から、イヌにおけるダブラフェニブの臨床的な用量を 5mg/kg/日と算定した。
- (2) 対象となった症例は 7 例で、犬種はパグ、ポメラニアン、M.ダックス、スコッチテリア、ペキニーズ、T.ブードル、W.コーギーなど多岐にわたった。腫瘍種は移行上皮癌が 5 例、前立腺癌が 2 例であった。臨床の有効性は PR1 例、SD4 例、PD1 例であり、5/7 例で頻尿などの臨床症状の改善が得られた。副作用として 4 例で皮膚腫瘍が認められ、うち 3 例は病理組織学的に乳頭腫と診断された。5 例で体重減少を認め、うち 1 例は 10% 以上の体重減少であった。5 例で Grade Ⅰ の嘔吐・食欲低下を認めたが、全例で一過性のものであった。投薬減量または中止が必要な症例はいなかった。投与開始 1 ヶ月後に急死した症例が 1 例存在した。この症例では解剖検査でも死因の特定には至らなかった。



- (3) 臨床試験前および終了時に採取した尿中の腫瘍細胞から RNA の抽出を行った。これらについて、現在解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------