

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09553

研究課題名(和文)腎細胞癌における脂肪由来幹細胞の役割の解明と新たな治療戦略の開発

研究課題名(英文)Elucidation of the role of adipose-derived stem cells in renal cell carcinoma and development of new therapeutic strategies

研究代表者

沼倉 一幸 (Numakura, Kazuyuki)

秋田大学・医学部附属病院・病院准教授

研究者番号：90566415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：R-MSC は、D-MSC と比較して、 $\beta$ -カテニタンパク質レベルの増加を示し、分子経路を介した幹細胞の特性の低下を示す。これはアルデヒド脱水素酵素活性 (ALDH) アッセイによってさらに裏付けられ、R-MSC では D-MSC よりも ALDH+ 細胞が少ないことが明らかになった。RCC 細胞株との共培養では、D-MSC と比較して R-MSC での遊走の増加が実証された。RCC 手術標本由来の腎周囲間質組織における  $\beta$ -カテニンの IHC 染色により、腫瘍の悪性度の上昇が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

-カテニンを標的とすることで、従来の治療に耐性を示す腎細胞癌の新規治療となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：A-MSCs exhibited multipotency, capable of differentiating into adipocytes, chondroblasts, and osteoblasts. R-MSCs showed enhanced mRNA expression of Hes1, Hey1, and Twist, along with increased  $\beta$ -catenin protein levels and decreased phospho-Akt (Ser473) and phospho-p38 MAPK compared to D-MSCs, indicating reduced stem cell potential via molecular pathways. This was further corroborated by aldehyde dehydrogenase enzymatic activity (ALDH) assays, revealing fewer ALDH+ cells in R-MSCs than in D-MSCs. Co-culturing with RCC cell lines demonstrated increased migration with R-MSCs compared to D-MSCs. Pathway analysis revealed elevated CD44 mRNA expression in RCC cell lines co-cultured with R-MSCs. IHC staining of  $\beta$ -catenin in perirenal stromal tissue from RCC surgical specimens revealed a higher positive score correlating with tumor aggressiveness.

研究分野：腎細胞癌

キーワード：脂肪由来幹細胞 腎細胞癌 カテニン 浸潤

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

腎周囲脂肪組織由来の腫瘍関連間葉系幹細胞は、Wnt/ $\beta$ -カテニン経路を介して腎細胞癌の浸潤性を促進する。

武藤 弓奈 1), 沼倉 一幸 1), 笹川 甫 1), 関根 悠哉 1), 小林 瑞貴 1), 佐藤 博美 1), 嘉島 相輝 1), 山本 竜平 1), 奈良健平 1), 齋藤 満 1), 成田 伸太郎 1), 山本 洋平 2), 大森 泰文 2), 羽瀧 友則 1)

- 1) 秋田大学大学院医学系研究科腎泌尿器科学講座
- 2) 秋田大学大学院医学系研究科分子病態学・腫瘍病態学講座

キーワード：脂肪由来間葉系幹細胞、腎細胞がん、 $\beta$ -カテニン、浸潤、遊走

ランニングタイトル：

腎臓がんにおける腫瘍関連間葉系幹細胞

#### 1. 研究開始当初の背景

脂肪由来間葉系幹細胞 (A-MSc) は、腫瘍微小環境の重要な構成要素として認識されている。しかし、腎細胞癌 (RCC) の進行におけるそれらの具体的な関与は、ほとんどわかっていない。

#### 2. 研究の目的

RCC における A-MSc の役割を明らかにすることを目的とした。

#### 3. 研究の方法

A-MSc を、RCC 患者 (R-MSc) と腎移植ドナー (コントロール、D-MSc) の両方の腎周囲脂肪から分離した。えられた A-MSc の多能性を評価し、その後、さまざまな RCC 細胞株と共培養して、移動と浸潤能を評価した。R-MSc と RCC 細胞の両方で分子経路を分析し、RCC 患者の手術標本から得た腎周囲脂肪で  $\beta$ -カテニンの免疫組織化学 (IHC) 染色を行った。

#### 4. 研究成果

A-MSc は多分化能を示し、脂肪細胞、軟骨芽細胞、骨芽細胞に分化することができた。R-MSc は、D-MSc と比較し、Hes1、Hey1、Twist の mRNA 発現が亢進し、 $\beta$ -カテニンタンパク質が増加し、リン酸化 Akt (Ser473) とリン酸化 p38 MAPK が減少していた。これらの分子経路の結果な幹細胞の特性が低下していることを示す。これは、アルデヒド脱水素酵素活性 (ALDH) アッセイによって裏付けられ、R-MSc では D-MSc よりも ALDH<sup>+</sup> 細胞が少ないことが明らかとなった。RCC 細胞株との共培養では、D-MSc と比較して R-MSc の浸潤能が亢進していた。また、分子経路の解析により、R-MSc と共培養した RCC 細胞株では CD44 の mRNA 発現が亢進していることが明らかとなった。RCC 手術標本の腎周囲間質組織における  $\beta$ -カテニンの IHC 染色では、腫瘍の悪性度と陽性スコアが相関することが明らかとなった。

R-MSc との共培養により腫瘍の浸潤能が亢進し、Wnt/ $\beta$ -カテニン経路を介して A-MSc の分化を促進し、RCC の移動と浸潤能を促進することが示唆された。RCC 微小環境にお

ける A-MSC の重要性と、治療ターゲットとしての可能性を示すことができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Miyake Makito, Kobayashi Mizuki, et al.	4. 巻 15
2. 論文標題 Subsequent Upper Urinary Tract Carcinoma Related to Worse Survival in Patients Treated with BCG	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2002 ~ 2002
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers15072002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sobu Ryuta, Numakura Kazuyuki, Naito Sei, Hatakeyama Shingo, Kato Renpei, Koguchi Tomoyuki, Kojima Takahiro, Kawasaki Yoshihide, Kandori Syuya, Kawamura Sadafumi, Arai Yoichi, Ito Akihiro, Nishiyama Hiroyuki, Kojima Yoshiyuki, Obara Wataru, Ohyama Chikara, Tsuchiya Norihiko, Habuchi Tomonori	4. 巻 12
2. 論文標題 Clinical impact of early response to first line VEGFR TKI in patients with metastatic renal cell carcinoma on survival: A multi institutional retrospective study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 4100 ~ 4109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.5268	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi Mizuki, Numakura Kazuyuki, Hatakeyama Shingo, Muto Yumina, Sekine Yuya, Sasagawa Hajime, Kashima Soki, Yamamoto Ryohei, Koizumi Atsushi, Nara Taketoshi, Saito Mitsuru, Narita Shintaro, Ohyama Chikara, Habuchi Tomonori	4. 巻 13
2. 論文標題 Severe Immune-Related Adverse Events in Patients Treated with Nivolumab for Metastatic Renal Cell Carcinoma Are Associated with PDCD1 Polymorphism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 1204 ~ 1204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes13071204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Kobayashi Mizuki, Ishida Toshiya, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Effect of Levofloxacin on the Efficacy and Adverse Events in Intravesical Bacillus Calmette-Guerin Treatment for Bladder Cancer: Results of a Randomized, Prospective, Multicenter Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Urology Focus	6. 最初と最後の頁 1666 ~ 1672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.euf.2022.06.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Kobayashi Mizuki, Koizumi Atsushi, Kashima Soki, Yamamoto Ryohei, Nara Taketoshi, Saito Mitsuru, Narita Shintaro, Inoue Takamitsu, Habuchi Tomonori	4. 巻 20
2. 論文標題 Factors influencing warm ischemia time in robot-assisted partial nephrectomy change depending on the surgeon's experience	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12957-022-02669-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Numakura K, Muto Y, Naito S, Hatakeyama S, Kato R, Koguchi T, Kojima T, Kawasaki Y, Kandori S, Kawamura S, Arai Y, Ito A, Nishiyama H, Kojima Y, Obara W, Ohyama C, Tsuchiya N, Habuchi T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Outcomes of axitinib versus sunitinib as first-line therapy to patients with metastatic renal cell carcinoma in the immune-oncology era	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 5839-5846
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.4130.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Kobayashi Mizuki, Muto Yumina, Sekine Yuya, Takahashi Makoto, Kashima Soki, Yamamoto Ryohei, Koizumi Atsushi, Nara Taketoshi, Saito Mitsuru, Narita Shintaro, Nanjyo Hiroshi, Habuchi Tomonori	4. 巻 10
2. 論文標題 First-line axitinib therapy is less effective in metastatic renal cell carcinoma with spindle histology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-77135-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Muto Yumina, Yamamoto Ryohei, Koizumi Atsushi, Nara Taketoshi, Kanda Sohei, Saito Mitsuru, Narita Shintaro, Inoue Takamitsu, Habuchi Tomonori	4. 巻 9
2. 論文標題 Robotic-assisted laparoscopic partial nephrectomy for renal cell carcinoma in horseshoe kidney: a hybrid technique with conventional laparoscopic surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Cancer Conference Journal	6. 最初と最後の頁 199 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13691-020-00420-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Kobayashi Mizuki, Hatakeyama Shingo, Naito Sei, Horikawa Yohei, Tanaka Toshikazu, Kamada Sachiko, Muto Yumina, Yamamoto Ryohei, Koizumi Atsushi, Nara Taketoshi, Kanda Sohei, Saito Mitsuru, Narita Shintaro, Inoue Takamitsu, Shimoda Naotake, Tsuchiya Norihiko, Ohyama Chikara, Habuchi Tomonori	4. 巻 25
2. 論文標題 Efficacy and safety of nivolumab for renal cell carcinoma in patients over 75?years old from multiple Japanese institutes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1543 ~ 1550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01693-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Kazuyuki, Muto Yumina, Saito Mitsuru, Narita Shintaro, Inoue Takamitsu, Habuchi Tomonori	4. 巻 30
2. 論文標題 Robot-assisted laparoscopic pyeloplasty for ureteropelvic junction obstruction with duplex system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Urology Case Reports	6. 最初と最後の頁 101138 ~ 101138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.eucr.2020.101138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Yumina Muto
2. 発表標題 Cancer-associated adipose-derived mesenchymal stem cells promote migration and invasion in kidney cancer
3. 学会等名 The American Urological Association Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yumina Muto
2. 発表標題 Cancer-associated adipose-derived mesenchymal stem cells promote migration and invasion in kidney cancer
3. 学会等名 The European Association of Urology Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Muto Yumina
2. 発表標題 Cancer-associated adipose-derived mesenchymal stem cells promote migration and invasion in kidney cancer
3. 学会等名 Annual Meeting of the American Urological Association (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Muto Yumina
2. 発表標題 Cancer-associated adipose-derived mesenchymal stem cells promote migration and invasion in kidney cancer
3. 学会等名 Annual Meeting the European Association of Urology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Muto Yumina
2. 発表標題 Adipose-derived mesenchymal stem cells promoted invasion of kidney cancer cell line in vitro study
3. 学会等名 Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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
研究分担者	明石 英雄  (Akashi Hideo)  (10431785)	秋田大学・医学系研究科・助教    (11401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	小林 瑞貴 (Kobayashi Mizuki)  (20838627)	秋田大学・医学部附属病院・助教  (11401)	
研究分担者	武藤 弓奈 (Muto Yumina)  (60837706)	秋田大学・医学部附属病院・医員  (11401)	
研究分担者	松峯 元 (Matsumine Hajime)  (80598144)	東京女子医科大学・医学部・准教授  (32653)	

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