

令和 3年 2月

西川涼馬 学位論文審査要旨

主 査 藤 原 義 之
副主査 武 中 篤
同 岡 田 太

主論文

Splice variants of lysosome-associated membrane proteins 2A and 2B are involved in sunitinib resistance in human renal cell carcinoma cells

(リソソーム関連膜タンパクのスプライスバリエント2Aと2Bはヒト腎癌細胞におけるスニチニブ耐性に関与する)

(著者：西川涼馬、尾崎充彦、佐々木諒、石川瑞穂、弓岡徹也、山口徳也、岩本秀人、本田正史、株田智弘、武中篤、岡田太)

令和2年 Oncology Reports DOI: 10.3892/or.2020.7752

参考論文

Effects of nerve - sparing procedures on bowel function after robot - assisted radical prostatectomy: A longitudinal study

(ロボット支援腹腔鏡下根治的前立腺全摘除術後の直腸機能に対する神経温存術式が及ぼす効果の縦断的研究)

(著者：西川涼馬、本田正史、寺岡祥吾、清水龍太郎、木村有佑、岩本秀人、森實修一、引田克弥、武中篤)

令和2年 The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery
DOI: 10.1002/rcs.2156

学 位 論 文 要 旨

Splice variants of lysosome- associated membrane proteins 2A and 2B are involved in sunitinib resistance in human renal cell carcinoma cells

(リソソーム関連膜タンパクのスプライスバリエント2Aと2Bはヒト腎癌細胞におけるスニチニブ耐性に関与する)

腎細胞癌 (RCC) の治療において、腫瘍の血管新生を阻害する作用を持つスニチニブは切除不能RCCに対する治療薬の一つであるが、多くの患者が早期に治療耐性を示すことが治療における大きな問題点となっている。本研究に先立ち、我々の研究グループはこれまでにヒト RCC 細胞株である ACHN を用いて、スニチニブ耐性モデル (SR-ACHN) を確立してスニチニブ耐性獲得メカニズムを研究し、リソソーム関連膜タンパク2 (LAMP-2) の発現増加がスニチニブ耐性獲得に関与することを解明してきた。LAMP-2には生理機能の異なる LAMP-2A、2B、2Cという3つのスプライスバリエントがあるが、RCCのスニチニブ耐性に主に関与するバリエントはまだ同定されていない。本研究はRCCのスニチニブ耐性に関与する LAMP-2バリエントを同定し、耐性獲得機序の解明を図ることを目的とした。

方 法: ヒト腎細胞癌細胞株であるACHNを使用した。スニチニブ耐性ACHN (SR-ACHN) は10 μ Mスニチニブを含む培地で継続的に培養して樹立した。ACHNにLAMP-2A、2B、2Cのプラスミドをトランスフェクションして強制発現させた細胞株を作成した。ACHN、SR-ACHNにおけるLAMP-2A、2B、2Cそれぞれの発現、及び強制発現株作成の評価はPCRを行って確認した。LAMP-2A、2B、2C強制発現株のスニチニブ耐性獲得は細胞毒性試験を行って評価した。

また、臨床検体を用いた評価も行った。鳥取大学医学部附属病院で腎細胞癌に対して腎摘出術を受け術後にスニチニブ治療を受けた患者の腎摘標本において、LAMP-2A、2B、2CのPCR発現量とスニチニブの治療効果との関係について解析した。臨床検体は10例用いた。

結 果: ACHNと比較しSR-ACHNにおいてLAMP-2A、2B、2Cの全ての発現が上昇していることが確認されたが、強制発現株における細胞毒性試験では、LAMP-2Aと2Bの強制発現株がACHNと比較してスニチニブに対して有意に高い耐性を示した。

臨床検体における検討では、スニチニブ治療における無増悪生存期間 (PFS) はLAMP-2A及び2Bの発現量との間に弱いながらも負の相関を認めた。LAMP-2Cではそのような相関は認

めなかった。加えて、腫瘍縮小率とLAMP-2A発現低下との間には中程度の相関がありLAMP-2B発現低下との間には弱い相関を認めた。また、LAMP-2バリエーションの発現レベルによって2群に分け Kaplan-Meierプロットを用いてPFSを検討したところ、LAMP-2Cは高発現群と低発現群で治療効果に差がなかったが、LAMP-2A、2Bにおいては2群間で有意差を認め、低発現群でPFSが延長した。LAMP-2スプライズバリエーションの発現量と腫瘍の病理組織学的異形度との関係に統計学的有意差は見られなかったものの、異形度が高い腫瘍はLAMP-2Aと2Bにおいて発現量が高くなる傾向を示した。

考 察:本研究はLAMP-2Aと2Bが RCCにおけるスニチニブ耐性への関与を示す最初の報告である。LAMP-2Aはシャペロン介在性オートファジーへの関与、LAMP-2Bはマクロオートファジーへの関与が報告されており、本研究の結果はRCCのスニチニブ耐性獲得にオートファジー活性が媒介している可能性を示唆している。オートファジーは組織環境に応じて癌細胞の増殖と死の双方に影響を与えることが報告されており、RCCのスニチニブ耐性がリソソームへのスニチニブ取り込みの亢進により生じそのメカニズムにLAMP-2が関与していることも報告されている。

スニチニブ耐性解除の戦略として、オートファジー阻害剤であるクロロキンをスニチニブと併用することでスニチニブの抗腫瘍効果が増強される可能性を報告する文献もあり、実際に膵臓神経内分泌腫瘍に対しては治療効果も示されている。RCCにおけるスニチニブ耐性の獲得にLAMP-2Aおよび2Bの過剰発現が関与しているという考え方に矛盾は無いと思われる。一方、LAMP-2CはRNAとDNAのリソソームへの取り込みへの関与が報告されており、スニチニブ耐性獲得には関与していないと考えられる。

臨床検体における検討では、腫瘍細胞におけるLAMP-2Aおよび2Bの発現がスニチニブへの反応性に関与していることが示唆された。スニチニブ治療によるPFSはLAMP-2A、2Bの発現量と弱いながら相関を認め、スニチニブ治療による腫瘍縮小効果はLAMP-2Aと中程度の相関、LAMP-2Bと弱い相関を認めた。LAMP-2Aと2Bの発現量が高い患者はKaplan-Meier解析において有意に高い病変増悪を示した。臨床検体のデータは細胞株での結果と一致しており、LAMP-2A、2Bの発現量増加はスニチニブ耐性の獲得を介して患者の予後に寄与している可能性が示唆される。

結 論:LAMP-2AおよびLAMP-2BはRCCのスニチニブ耐性に関与していることが示された。RCC患者におけるこれらの発現がスニチニブ耐性の予測マーカーとなり治療効果を予測する指標として使用できる可能性が示唆された。