

平成30年 2月

弓岡徹也 学位論文審査要旨

主査	磯本	一
副主査	岡田	太
同	武中	篤

主論文

Lysosome-associated membrane protein 2 (LAMP-2) expression induced by miR-194-5p downregulation contributes to sunitinib resistance in human renal cell carcinoma cells

(miR-194-5pの低下により誘発されるリソソーム関連膜タンパク2 (LAMP-2) の発現は、ヒト腎細胞癌細胞におけるスニチニブ抵抗性に寄与する)

(著者：弓岡徹也、尾崎充彦、佐々木諒、山口徳也、小沼邦重、岩本秀人、森實修一、本田正史、武中篤、岡田太)

平成30年 Oncology Letters 15巻 893頁～900頁

参考論文

1. Robot-assisted radical prostatectomy in an initial Japanese series: the impact of prior abdominal surgery on surgical outcomes

(導入初期の日本人におけるロボット支援下根治的前立腺全摘術：腹部手術歴が手術成績に与える影響)

(著者：弓岡徹也、岩本秀人、眞砂俊彦、森實修一、八尾昭久、本田正史、村岡邦康、瀬島健裕、武中篤)

平成27年 International Journal of Urology 22巻 278頁～282頁

学 位 論 文 要 旨

Lysosome-associated membrane protein 2 (LAMP-2) expression induced by miR-194-5p downregulation contributes to sunitinib resistance in human renal cell carcinoma cells

(miR-194-5pの低下により誘発されるリソソーム関連膜タンパク2 (LAMP-2) の発現は、ヒト腎細胞癌細胞におけるスニチニブ抵抗性に寄与する)

転移性腎細胞癌に対する薬物治療としては、チロシンキナーゼ阻害薬が使用されている。チロシンキナーゼ阻害薬の中でも、スニチニブは転移性腎細胞癌における第1選択薬となっている。しかし、無増悪生存期間は11ヶ月であり、スニチニブ抵抗性を獲得し病勢の悪化を認めることとなり、薬剤変更が余儀なくされる。第2選択薬としての他のチロシンキナーゼ阻害薬やmTOR阻害薬を使用しても無増悪生存期間は約4ヶ月と短期間である。そのため、第1選択薬であるスニチニブの無増悪生存期間の延長が重要と考えられる。スニチニブ抵抗性に関する研究の報告は散見されるが、未だ明確な結論には至っていない。最近では、治療抵抗性にリソソームが関連していると報告されており、本研究では、リソソーム関連膜タンパク2 (LAMP-2) とmiR-194-5pに焦点を当て、スニチニブに対する抵抗性を解除する機構を解明することを目的とする。

方 法

実験には鳥取大学医学部病態生化学研究室で樹立したスニチニブ抵抗性ヒト腎癌細胞株ACHN (sunitinib resistant ACHN: SR-ACHN) を用いた。まず、ACHNとSR-ACHNを比較し、発現が低下しているmicroRNAを同定した。続いてSR-ACHNに同定したmiR-194-5pを導入し、過剰発現させた。この細胞株を用いてスニチニブによる細胞毒性試験、Western blot解析を行った。また、進行性腎細胞癌の臨床検体を用いてリアルタイムPCRで腫瘍内のmiR-194-5pの測定、さらにLAMP-2による免疫染色を行い、それぞれ臨床病期との関連、miR-194-5pとLAMP-2の相関関係を検討した。

結 果

ACHNとSR-ACHNでは、SR-ACHNで有意にmiR-194-5pの発現が低下していた。Western blot解析ではSR-ACHNでLAMP-2の発現が有意に高かった。SR-ACHNにmiR-194-5pを導入した細胞

株では、スニチニブによる細胞毒性試験で薬剤耐性が改善しており、Western blot解析ではLAMP-2の発現が低下していた。臨床検体では、miR-194-5p、LAMP-2と臨床病期に関連はなかったが、miR-194-5pとLAMP-2は負の相関関係を示していた。

考 察

in vivoではmiR-194-5pがスニチニブ抵抗性に関係していることが判明した。さらにmiR-194-5pはLAMP-2を負に制御していることも判明した。microRNAは多くの癌腫で薬剤感受性に重要な役割を担っていると考えられており、腎癌におけるスニチニブ抵抗のメカニズムに関与するmicroRNAを同定することで腎癌患者の利益となる可能性が考えられた。microRNAとスニチニブ耐性に関する報告は多いが、miR-194-5pとの関連の報告はない。また、miR-194-5pと薬剤耐性に関連する報告は1編のみあるが、肺小細胞癌のシスプラチン耐性との報告のみであり、miR-194-5pとスニチニブ耐性との報告は本研究が初めてである。miR-194-5pが制御しているLAMP-2はリソソームの機能に関連し、スニチニブ抵抗性に関連している報告がある。それらによるとスニチニブがLAMP-2を介してリソソームに取り込まれることで抵抗性を獲得すると考えられている。本研究ではmiR-194-5pとLAMP-2の関連について明らかにした。臨床検体では、miR-194-5pとLAMP-2は負の相関関係を示したが、2つの分子と臨床病期には相関関係はなかった。このことより、2つの分子は病期の進行に関連はなく、薬剤耐性に関連している分子であると考えられた。今後、2つの分子に注目することで腎癌患者に対する新たな治療となる可能性が示唆された。

結 論

miR-194-5pはスニチニブ抵抗性を抑制するmicroRNAであり、LAMP-2を負に制御していた。miR-194-5pを標的とすることでスニチニブ抵抗性の腎癌患者におけるスニチニブの抵抗性に対する新たな治療となる可能性が示唆された。