

# 論文内容要旨

論文題目

腎細胞癌における $\beta$ アドレナリン受容体の発現と機能解析

責任講座： 腎泌尿器外科学講座  
氏名： 牛島 正毅

## 【内容要旨】(1,200字以内)

$\beta$ アドレナリン受容体( $\beta$  adrenoceptor: ADRB)活性が癌促進的に働くことが報告されている。腎細胞癌(renal cell carcinoma: RCC)でも $\beta$ 2ADRB(ADRB2)阻害薬が増殖を抑制するという報告があるが、ADRB刺激の作用や、既存の抗腎細胞癌薬と $\beta$ 遮断薬を併用した場合の報告はない。

【目的】カテコラミン存在/非存在下でのRCCにおけるADRB1/2の発現・機能を解析し、ADRB1/2刺激がRCCに促進的に働くか、既存の抗腎細胞癌薬に対して抵抗性を引き起こすかを検討する。

【方法】ADRB1/2の発現を腎摘除術検体の免疫組織化学染色とヒト腎癌細胞株のmRNAで調べた。ADRB1/2の基礎活性をsiRNAでADRB1/2のノックダウン(Knock Down: KD)で調べた。非選択的 $\beta$ 受容体作動薬であるIsoproterenol (ISO)の存在下で、ADRB1/2 KDと、非選択的 $\beta$ 遮断薬のPropranolol (PRO)の影響を調べた。腎癌細胞株においてISOとPROがADRB1/2活性に与える影響をGloSensor cAMP assayにてcAMP産生量を測定した。また、ADRB1/2活性の既存治療薬Sorafenib (Sor)への反応性をISO添加およびADRB1/2 KDまたはPROによる遮断を行い評価した。細胞活性はMTS assayで評価した。

【結果】臨床検体ではADRB1/2の発現が確認され、ヒト腎癌細胞株においてADRBのmRNAの発現が確認された。ADRB1 KDはADRB1発現の高いACHNでERK1/2、Akt (S473)のリン酸化を促進し、細胞活性の上昇を認めたが、発現量の少ないA-498では軽度Erk1/2のリン酸化上昇を認めるのみだった。ADRB2 KDでは逆に、ERK1/2、Akt (S473)のリン酸化、MCL1の発現を抑制し、ACHNではsiADRB2(1)(2)で、A-498ではsiADRB2(1)で活性低下を認めた。腎癌細胞株にISOを添加したところcAMPは上昇し、PRO添加では低下した。ISOによるERK1/2、Akt (S473)のリン酸化促進、A-498でBcl-2の発現促進が確認された。ISO添加後、Negative controlでは細胞活性が上昇し、この反応はADRB2 KDでキャンセルされた。Sorにより細胞活性は低下したが、ISO添加によりこの細胞活性低下作用は減弱し、この反応はADRB2 KDによってキャンセルされた。高濃度PRO(10  $\mu$ M)はISO存在下でのSorの作用減弱を軽度キャンセルしたが、低濃度のPROではキャンセルされなかった。

【結論】ADRB1/2刺激は、RCCにおいて腫瘍促進的に作用し、Sorの治療効果を落とす可能性が示された。

2022年1月17日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 牛島 正毅

論文題目： 腎細胞癌における $\beta$ アドレナリン受容体の発現と機能解析

審査委員：主審査委員 渡辺 昌文



副審査委員 太田 康之



副審査委員 山口 浩明



審査終了日： 2021年12月27日

### 【 論文審査結果要旨 】

腎細胞癌には組織型があり、淡明細胞癌 (Clear cell renal cell carcinoma; ccRCC) が最多で 70-80%, 次いで乳頭状腎癌 (Papillary RCC; pRCC; 10-15%) などがある。ccRCC の約 90% は、癌抑制遺伝子 von Hippel Lindau (VHL) の両対立遺伝子に異常を認め不活化している。 $\beta$ 2アドレナリン受容体 ( $\beta$  adrenergic receptor: ADRB2) は VHL により分解誘導されるため、ccRCC では ADRB2 が蓄積していると考えられる。近年、ccRCC では、ADRB2 阻害薬が in vitro 系で細胞増殖を抑制し、in vivo 系で腫瘍増大を抑制することが報告された。しかし、外因性のアドレナリン刺激の影響や、抗癌剤である Sorafenib 投与下でも腫瘍細胞の増殖を促進させるかなどは不明である。また、pRCC でも同様なことが観察されるのかも興味深い。

当院で施行された腎摘除術患者の臨床検体で ADRB1/2 の発現が確認され、ヒト腎癌細胞株において ADRB の mRNA と蛋白の発現が確認された。siRNA による ADRB2 ノックダウンでは、細胞増殖や生存に重要な ERK1/2、Akt (S473) のリン酸化、抗アポトーシス作用をもつ MCL1 の発現を抑制した。さらに、培養細胞の生存率や増殖率を定量する MTS 試験で細胞活性低下を認めた。腎癌細胞株に非選択的 $\beta$ 受容体作動薬である Isoproterenol (ISO) を添加したところ cAMP は上昇し、非選択的 $\beta$ 遮断薬の Propranolol (PRO) 添加では低下した。ISO により ERK1/2、Akt (S473) のリン酸化、BCL2、MCL1 の発現、MTS 試験で細胞活性が上昇し、腫瘍細胞の増殖が促進される可能性が示された。この反応は ADRB2 ノックダウンで解除され、ADRB2 を介したものと考えられた。抗癌剤 Sorafenib により細胞活性は低下したが、ISO 添加によりこの細胞活性は回復しており、ADRB 刺激がソラフェニブ抵抗性に関与する可能性が示唆された。

本研究で、ccRCC でも pRCC でも、外因性のアドレナリン刺激が、ADRB2 を介して、腫瘍細胞の増殖を促進すること、そしてこれは Sorafenib 投与下でも同様であることが観察された。

学位論文審査会においては、実験条件や条件設定理由に関する詳細の記述、また新規の発見がどの部分であるか明示するようという指摘があった。本研究には、重要な新知見が含まれており、研究過程についても熟慮され、結果に対する十分な考察もなされていた。本審査委員会では、全員一致して、博士 (医学) 論文にふさわしいものと判断し、合格とした。

(1, 200字以内)