

学 位 論 文 内 容 要 旨

論文題目

GSK-3 inhibition *in vitro* and *in vivo* enhances antitumor effect of sorafenib in Renal Cell Carcinoma

(腎細胞癌においてグリコーゲン合成酵素キナーゼ - 3 の阻害は

ソラフェニブの抗腫瘍効果を増強させる)

指導 (紹介) 教授 : 富田善彦

申 請 者 氏 名 : 川 添 久

【内容要旨】

【背景、目的】腎細胞癌 (RCC) は 10 万人あたりの粗罹患率が男性 7 人女性 3 人とされている比較的多い癌である。初診時には有転移率 25%、根治的手術後に 20-50%に転移が出現する。ソラフェニブは RCC に対する全身治療薬として用いられるマルチキナーゼ阻害薬であり、近年転移性腎癌や進行性腎癌に用いられるようになった。しかしそのメカニズムは未だ不明のままである。また二次耐性も問題となっている。今回我々は RCC 細胞株でソラフェニブの直接効果を検討し、ソラフェニブ抵抗性のメカニズムに焦点をあて、ソラフェニブと GSK-3 阻害剤との併用効果について *in vitro*、*in vivo* で検討した。

【方法】腎細胞癌株は Caki1、KH39、A498、ACHN、KU19-20、KRC/Y を用いた。GSK-3 β 阻害剤として ATP 拮抗作用による阻害剤 AR-A014418、SB-216763 を使用した。腎細胞癌異種移植マウスは 8 週のメスの側腹部に ACHN、Caki 1 を皮下注射し作成した。【結果】①ソラフェニブは RCC 細胞株においてアポトーシスを引き起こすことにより用量依存的に増殖を抑制していた。②ソラフェニブの投与により XIAP、Bcl-2 の抗アポトーシス分子の発現の増加を認め、活性型 GSK-3 β 蛋白を増加させていた。mRNA レベルでも GSK-3 β は増加を認めていた。このことが二次耐性の原因と考えられた。③ *in vitro* においてソラフェニブと GSK-3 β 阻害剤を併用することによって抗腫瘍効果について相乗効果を認めた。④GSK-3 β 阻害剤は *in vivo* でもソラフェニブの抗腫瘍効果を増強した。

【考察】ソラフェニブは様々な作用によりアポトーシスを引き起こすがその一つとして AKT のリン酸化の減少が挙げられる。そのため GSK-3 の不活性化が減少し、またメカニズムは不明であるが GSK-3 の発現が増強することがソラフェニブの二次耐性の原因となっている可能性がある。今回ソラフェニブと GSK-3 阻害剤を併用することで抗腫瘍効果を高められると考えられた。

【結論】ソラフェニブと GSK-3 阻害剤との併用療法は RCC の新しい治療選択として可能性が高い。今回の我々の結果は *vivo* において併用療法が有効であることを世界で初めて実証した。

(1, 200 字以内)

平成 25年 1月 28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：川添 久

論文題目：Glycogen synthase kinase-3 inhibition in vitro and in vivo enhances antitumor effect of sorafenib in renal cell carcinoma (腎細胞癌においてグリコーゲン合成酵素キナーゼ-3 の阻害はソラフェニブの抗腫瘍効果を増強させる)

審査委員：主審査委員 北中 千史



副審査委員 富田 善彦



副審査委員 藤井 順逸



審査終了日：平成 25年 1月 25日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

腎細胞がん治療の中心は外科的切除であるが、約3分の1の症例は診断時すでに転移巣を有しており、約半数の症例で術後経過中に転移再発を認める。加えて腎細胞がんは一般的に従来の放射線や殺細胞的な化学療法に対して高度抵抗性であることから、腎細胞がんの治療成績向上には新たなアプローチによる新規治療法の開発が必須である。このような中、近年腎細胞がんに対するキナーゼ阻害薬 Sorafenib の有効性が明らかになってきた。しかしながら Sorafenib に対してもいずれ腫瘍は抵抗性を獲得することから、この抵抗性の克服が Sorafenib 治療の成否に直結すると考えられる。そこで申請者は本研究において Sorafenib と Sorafenib 抵抗性克服が期待できる薬物との併用による腎細胞がん治療の可能性につき検討を行った。

まず各種腎細胞がん株に対する Sorafenib の効果を in vitro で検討したところ、アポトーシス細胞の増加と増殖抑制が認められた。興味深いことに、Sorafenib 処理後、腎細胞がん細胞中の GSK3 β ならびにアポトーシス抑制分子 XIAP、Bcl-2 の発現亢進が観察された。然るに申請者らのグループはすでに腎細胞がん細胞において GSK3 β が XIAP、Bcl-2 等抗アポトーシス分子の発現誘導を通じて細胞にアポトーシス抵抗性を賦与していることを明らかにしている。そこで申請者は GSK3 β 抑制が Sorafenib 誘導アポトーシスに対する抵抗性の克服を通じて、Sorafenib によるアポトーシス誘導・増殖抑制効果を増強するのではないかと考え、検討を行った。その結果 Sorafenib と GSK3 β 阻害薬 AR-A014418 の組み合わせ処理により、いずれの単独処理よりも、より効率的な腎細胞がん細胞の増殖抑制が in vitro で認められた。また、両薬剤の組み合わせによる治療効果をヌードマウスの腎細胞がん皮下腫瘍モデルを用いて in vivo にて検討したところ、AR-A014418 は腹腔内投与により腫瘍中の XIAP、Bcl-2 等の発現を抑制すると同時に、経口投与による Sorafenib の抗腫瘍効果を増強した。

以上の結果は、必ずしも GSK3 β 阻害薬の作用機序が抗アポトーシス分子発現抑制によることを実証するものではないが、少なくとも Sorafenib と GSK3 β 阻害薬の組み合わせが腎細胞がんの治療に有効である可能性を明示している。特にこの両者の組み合わせ治療の有用性、安全性を animal xenograft model において示し、その成果を世界に先駆けて peer-reviewed journal に発表したことは評価される。また、予備審査で指摘のあった論文書式等の問題についても、適切な改訂が行われた。以上の理由から本審査委員会は本研究が学位（医学）の授与に値するものと判定する。

(1, 200字以内)