

論文内容要旨

論文題目

淡明細胞型腎癌における線維芽細胞増殖因子受容体タイプ4の発現と機能の解析
(Fibroblast growth factor receptor 4 in clear cell Renal Cell Carcinoma)

責任講座：腎泌尿器外科学講座

氏名：成澤 貴史

【内容要旨】(1,200字以内)

【背景】

遺伝子統合解析の結果、淡明細胞型腎癌の多くで線維芽細胞増殖因子受容体タイプ4 (Fibroblast growth factor receptor type 4: FGFR4) の遺伝子コピー数が増幅していることが示された。しかし今日まで FGFR4 の遺伝子コピー数増加が、淡明細胞型腎癌の増殖シグナルに機能的関与をするのか、また治療意義のある標的であるのかどうか明らかにはなっていない。

【目的】

淡明細胞型腎癌における FGFR4 の発現と機能の解析、および薬物治療標的になりうるか検討すること。

【方法】

ヒト腎癌細胞株 A498、A704、769P、および臨床検体を用いて FGFR4 遺伝子コピー数と蛋白発現の関連を検討した。また、FGFR4 の発現と臨床的因子との関連を検討した。ヒト腎癌細胞株を用いて、FGFR4 を阻害し、細胞内シグナル伝達経路、細胞増殖、アポトーシス細胞死への影響を検討した。FGFR4 遺伝子コピー数はリアルタイム PCR 法、ヒト腎癌細胞株の蛋白発現、シグナル伝達経路の解析は Western blot 法、細胞増殖は MTS アッセイ法、アポトーシス細胞死はフローサイトメトリーによる AnnexinV 評価と、Caspase3/7 および TMRM を標識した逆位相蛍光顕微鏡観察で行った。FGFR4 阻害は RNA 干渉法による阻害と選択的 FGFR4 阻害剤 BLU9931 添加により行った。最後に、ヒト腎癌細胞株 A498 皮下移植マウスに BLU9931 投与し腫瘍抑制効果を評価した。

【結果】

ヒト腎癌細胞株、臨床検体両者において FGFR4 遺伝子コピー数と蛋白発現の強さの間に正の相関を認めた。臨床検体の約60%でFGFR4遺伝子コピー数の増加、FGFR4蛋白の発現亢進がみられた。RNA干渉法によるFGFR4阻害はAKT、ERK1/2、STAT3の三経路の細胞内シグナル伝達を抑制し、細胞増殖抑制を引き起こした。選択的FGFR4阻害剤BLU9931は濃度依存性に細胞内シグナル伝達三経路を抑制した。さらにBLU9931のIC50は正常尿細管細胞株HRCEpCでは20.5 μMだったのに対し、ヒト腎癌細胞株A498、A704、769Pではそれぞれ4.6 μM、3.8 μM、2.7 μMで、腎癌株は正常株よりも低濃度で細胞増殖が抑制されていた。また、BLU9931処理によりAnnexinV分画の増加、Caspase3/7の発現亢進、TMRMの発現低下が観察され、アポトーシスを誘導することが示された。腎癌細胞株A498皮下移植マウスモデルを用いたFGFR4選択的阻害剤BLU9931の薬剤反応試験では、腫瘍抑制反応を確認すると同時にマウス体重も維持されることを確認した。

【結論】約60%の淡明細胞型腎癌にFGFR4遺伝子増幅がみられ、細胞増殖、生存に寄与する。FGFR4選択的阻害は、有望な新規治療となりうる。

令和3年1月12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： 成澤 貴史

論文題目： 淡明細胞型腎癌における線維芽細胞増殖因子受容体タイプ4の発現と機能の解析

審査委員：主審査委員

山口 浩 明



副審査委員

渡 辺 昌 文



副審査委員

後 藤 薫



審査終了日： 令和3年1月8日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

腎癌治療において、血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR) を標的にした治療薬や癌免疫治療薬が臨床応用されることにより、予後が飛躍的に改善しているものの、多くの患者は再燃するため新規治療法の開発が求められている。遺伝子統合解析の結果、淡明細胞型腎癌の多くで線維芽細胞増殖因子受容体タイプ4 (Fibroblast growth factor receptor type 4: FGFR4) の遺伝子コピー数が増幅していることが示されている。しかしながら、FGFR4 の遺伝子コピー数増加が、淡明細胞型腎癌の増殖シグナルに機能的関与をするのか、また治療意義のある標的であるのかどうか明らかにされていない。本研究では、淡明細胞型腎癌における FGFR4 の発現と機能の解析および薬物治療標的になりうるか検討した。

ヒト腎癌細胞株 (A498、A704、769P) および臨床検体両者において FGFR4 遺伝子コピー数と蛋白発現量に正の相関を認めた。臨床検体の約60%で FGFR4 遺伝子コピー数の増加、FGFR4 蛋白の発現亢進がみられた。RNA 干渉法による FGFR4 阻害は AKT、ERK1/2、STAT3 の三経路の細胞内シグナル伝達を抑制し、細胞増殖抑制を引き起こした。選択的 FGFR4 阻害剤 BLU9931 は濃度依存性に細胞内シグナル伝達三経路を抑制した。さらに BLU9931 の IC₅₀ は正常尿細管細胞株 HRCEpC では 20.5 μM だったのに対し、ヒト腎癌細胞株 A498、A704、769P ではそれぞれ 4.6 μM、3.8 μM、2.7 μM であり、腎癌株では正常株よりも低濃度において細胞増殖が抑制された。また、BLU9931 処理により AnnexinV 分画の増加、Caspase3/7 の発現亢進、TMRM の発現低下が観察されたことから、アポトーシスを誘導することが示された。腎癌細胞株 A498 皮下移植マウスモデルを用いた FGFR4 選択的阻害剤 BLU9931 の薬剤反応試験では、腫瘍抑制反応を確認すると同時にマウス体重も維持されることを確認した。

以上本研究では、約60%の淡明細胞型腎癌に FGFR4 遺伝子増幅がみられ、細胞増殖、生存に寄与することを示し、FGFR4 選択的阻害剤が有望な新規治療薬となる可能性を明らかにした。

学位論文審査会においては、本研究が FGFR4 を標的とした新規作用機序を有する腎癌治療薬開発に向けた有用な基礎的知見を含むものであることから、本研究が学位論文に値するとの結論を得た。